UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER. — FACULTÉ DE PHARMACIE N° 127

ÉTUDE PHARMACOLOGIQUE

DES

FERMENTS DE LA POUDRE DE PANCRÉAS

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Pharmacie de Montpellier

Le 22 Décembre 1922

PAR

A. RENAUD

PHARMACIEN DE 1re CLASSE

LAURÉAT DE L'ÉCOLE DE PHARMACIE DE NANTES

Pour obtenir le Diplôme de Docteur de l'Université de Montpellier (Mention Pharmacie)

JURY : MM. ASTRUC, Professeur, *Président.*
TARBOURIECH, Professeur. } *assesseurs*
CANALS, chargé d'agrégation. }

Marcel CATTIER
EDITEUR
TOURS
1922

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER. — FACULTÉ DE PHARMACIE N° 127

ÉTUDE PHARMACOLOGIQUE

DES

FERMENTS DE LA POUDRE DE PANCRÉAS

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Pharmacie de Montpellier

Le 22 Décembre 1922

PAR

A. RENAUD

PHARMACIEN DE 1re CLASSE

LAURÉAT DE L'ÉCOLE DE PHARMACIE DE NANTES

Pour obtenir le Diplôme de Docteur de l'Université de Montpellier (Mention Pharmacie)

JURY : MM. ASTRUC, Professeur, *Président.*
TARBOURIECH, Professeur. } *Assesseurs*
CANALS, chargé d'agrégation.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Marcel CATTIER
ÉDITEUR
TOURS
1922

Faculté de Pharmacie de Montpellier

ADMINISTRATION

MM. G. MASSOL (✻, I. P. ✪) . . . *Doyen.*
FONZES-DIACON (✻, I. P. ✪). *Assesseur.*
GILLET (✻. ⅄, ⅄, ✪) . . . . *Secrétaire.*
GOT (I. P. ✪ et Izard (I P. ✪) *Secrétaires honoraires.*

PROFESSEURS

MM. G. MASSOL (✻, I. P. ✪). . . *Physique appliquée.*
H. IMBERT I. P ✪) . . . . . *Analyse chimique.*
H.FONZES-DIACON(✻,I.P.✪) *Chimie minérale.*
A. ASTRUC (I. P. ✪) . . . . . *Pharmacie galénique et industrielle.*
HOLLANDE (I. P. ✪) . . . . . *Histoire naturelle des médicaments. Botanique.*
P.-J.TARBOURIECH(✻,IP✪) *Chimie organique.*
A. JUILLET (I. P. ✪) . . . . . *Matière médicale.*

PROFESSEUR HONORAIRE

M. F. JADIN (✻, I. P. ✪), Doyen de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg.
MM, L. COURCHET (✻, I. P. ✪) et ASTRE (I. P. ✪).

CHARGÉS DE COURS

MM. H. IMBERT (I. P. ✪) . . . . . *Toxicologie.*
A. ASTRUC (I. P. ✪) . . . . . *Hydrologie.*
P.-J.TARBOURIECH(✻,IP✪) *Chimie biologique.*
A. JUILLET (I. P. ✪) . . . . . *Zoologie.*
M.-A. FAUCON (✻, A. ✪) . . *Pharmacie chimique.*
E. CANALS . . . . . *Botanique cryptogamique.*
M. EMBERGER . . . . , . . . *Botanique.*
MOYE, pr. Fac. Droit (✻,I.P.✪) *Législation pharmaceutique.*

AGRÉGÉS

MM. M.-A. FAUCON (✻, A. ✪).
E. CANALS, chargé d'agrégation.
L. EMBERGER, chargé d'agrégation.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. M.-A. FAUCON (✻, A. ✪) . . *Physique.*
L. FARRÉ (A. ✪ . . . . . *Chimie et Pharmacie*
E. DALMIER. . . . . *Histoire naturelle.*

NOTA. — La Faculté de Pharmacie n'accepte la responsabilité d'aucune des opinions émises par les candidats dans les thèses ou synthèses qui lui sont présentées.

A MES CAMARADES DE COMBAT

du 77e Régiment d'infanterie

A. RENAUD.

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR ASTRUC

A MONSIEUR LE PROFESSEUR TARBOURIECH

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

A MONSIEUR CANALS

DOCTEUR ÈS-SCIENCES

CHARGÉ D'AGRÉGATION

A. RENAUD.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547021_0071

TABLE DES MATIÈRES

Pages

Introduction 1

QUELQUES DONNÉES GÉNÉRALES SUR LE PANCRÉAS ET SES PRODUITS DE SÉCRÉTION .

Le Pancréas 5
Produits de sécrétion du Pancréas 6
1° Les ferments. Quelques-uns de leurs propriétés 8
2° La sécrétion interne 10

PREMIÈRE PARTIE
L'AMYLASE DANS LA POUDRE DE PANCRÉAS

Définition 13
Action de l'amylase 13
Identification des différents ferments (etc) 14
Objet de l'étude 16
Méthodes de dosage des sucres réducteurs 16

EXAMEN DU PROCÉDÉ CODEX D'ESSAI DU POUVOIR AMYLOLYTIQUE

La matière passive : La fécule 20
Age de la pomme de terre 22
Façon de préparer la fécule... eau de lavage, tamisage (etc) .. 22
Fabrication de l'empois (etc) 27
La matière active : Le ferment 29
Température d'action 29
Quantité de ferment prescrite dans l'essai Codex 30
L'essai Codex 34
Conclusions : Rédaction proposée : Essai, titrage 35

DEUXIÈME PARTIE

Pages

LE FERMENT PROTÉOLYTIQUE DANS LA POUDRE DE PANCRÉAS

Généralités. Action de la trypsine 37

EXAMEN DU PROCÉDÉ CODEX D'ESSAI DU POUVOIR PROTÉOLYTIQUE

La matière passive 40
La question de l'autolyse 41
Le tamisage de la fibrine 45
Conclusions 49
L'essai 49
Complément du procédé Codex : Méthode à l'aminoformol de Sœrensen 50

TROISIÈME PARTIE

LA LIPASE DANS LA POUDRE DE PANCRÉAS

Lipases végétales. Lipases animales 53
Propriétés de la lipase pancréatique. Mécanisme de la saponification. Action de la lipase 54

MESURE DE L'ACTIVITÉ LIPASIQUE DE LA POUDRE DE PANCRÉAS

Titrage à l'huile 56
Titrage à la monobutyrine 57
Conclusion : Rédaction proposée 61

QUATRIÈME PARTIE

CHAPITRE PREMIER

Préparations industrielles et modes d'emploi de la pancréatine 63
Préparations industrielles : Historique de la question 63
Préparation : séchage de la pancréatine .. 65
dégraissage à l'éther 67
Mode d'emploi de la pancréatine : Pancréatine en solution. Pancréatine en poudre. Valeur de ces formes .. 67

CHAPITRE II

Influence de l'acidité stomacale sur la pancréatine 71

Trypsine

A) Influence d'une solution chlorhydrique au taux stomacal avec acidité de 2.70 ‰ en Hcl gazeux... de 1.30 ‰ en Hcl gazeux.

Pages

B) Influence d'une digestion pepsique chlorhydrique de fibrine de 2 h. 1/2 sur la trypsine pancréatique 73
avec acidité de 2.70°/₀₀ en Hcl gazeux... de 1.30 °/₀₀en Hcl gazeux.. 75
C) Conclusions 78

Amylase

A) Influence d'une solution chlorhydrique au taux stomacal 79
avec acidité de 2.70°/₀₀ en Hcl gazeux... de 1.30°/₀₀ en Hcl gazeux...
...de 0.90°/₀₀ en Hcl gazeux 79
B) Influence d'une digestion pepsique chlorhydrique de fibrine de 2 h. 1/2 sur l'amylase dans la pancréatine 82
avec acidité de 2.70°/₀₀ en Hcl gazeux... de 1.30°/₀₀ en Hcl gazeux...
...de 0.90 °/₀₀ en Hcl gazeux 83
C) Conclusions 84

Lipase

Influence de l'eau distillée à + 36°5 sur la lipase 85
Influence de la durée de la macération 86
Interprétation des résultats 86
Conclusions 87
CONCLUSIONS GÉNÉRALES 89

Bibliographie 93

ÉTUDE PHARMACOLOGIQUE

DES

FERMENTS DE LA POUDRE DE PANCRÉAS

INTRODUCTION

Le tube digestif est une merveilleuse usine de transformation des aliments. Autrefois, la digestion passait pour un phénomène purement mécanique, une sorte de trituration. C'est là une conception très éloignée de celle d'aujourd'hui.

RÉAUMUR, le premier, établit que la digestion est un acte essentiellement chimique. Mais, on croyait, jusqu'à Claude Bernard, que l'estomac seul accomplissait cette fonction, ignorant le rôle de glandes salivaires, du pancréas et de l'intestin.

La découverte des diastases fit la lumière sur tous ces phénomènes. Etablies d'un bout à l'autre du tube digestif, elles travaillent, spécialisées dans leurs fonctions, chacune sur une substance particulière, comme autant d'ouvriers d'art qui se passent l'ouvrage pour le parachever.

Ainsi la pepsine commence à cliver la molécule protéique, elle la dégrossit, puis la trypsine continue son œuvre jusqu'à la transformation complète en corps simples. Quelque molécule albuminoïdique plus résistante a-t-elle échappé à son action, l'érepsine est alors là, qui s'en empare et la travaille jusqu'à la rendre utilisable par l'organisme. La trypsine et l'erepsine pourraient accomplir le travail de la pepsine, si celle-ci venait à manquer, mais l'œuvre serait plus lente et plus laborieuse.

La nature a trouvé bien longtemps avant les hommes le moyen de bien faire en spécialisant ses ouvriers.

M. le professeur Astruc qui avait accueilli mon frère

pour un travail sur les dosages et les incompatibilités de la pepsine, me conseilla de reprendre une étude analogue sur la pancréatine. Je garde un excellent souvenir des mois passés dans son laboratoire. Là, en effet, le chef de laboratoire, n'est pas un patron rigide, mais un conseiller paternel, qui possède le don bien rare de laisser autour de lui les initiatives se développer tout en les orientant et, préfère plutôt faire reconnaître la nécessité de sa direction que de l'imposer.

Je n'oublie pas non plus les excellents conseils de M. Canals, docteur ès-sciences et chargé des fonctions d'agrégé qui, avec sa haute compétence en chimie biologique, m'a souvent suggéré la bonne voie à suivre.

Dans cette étude, comportant une partie industrielle, j'ai trouvé aux laboratoires de Gentilly, près de Messieurs Byla et Pénau éminents praticiens des diastases, tous les conseils nécessaires pour éviter des écueils.

Je remercie également Mlle Dubois, Messieurs Tiget, Simonnet et Cantin. Ils m'ont accueilli avec une amabilité dont je me souviens.

Je dédie ce travail à mes camarades de combat du [illegible] régiment d'infanterie avec lesquels j'ai vécu pendant sept années : paysans et petits employés, gars d'Anjou, de Bretagne et de Vendée, dévoués et secourables, rudes à la souffrance, toujours à la peine et aux coups, et ne s'en vantant pas. Ils étaient la « fleur de chez nous », « La Fleur de chez nous » ! : j'entendis cette parole au sommet de la côte 304, sous Verdun. Nous étions depuis trois jours soumis à un bombardement formidable, tapis dans des trous d'obus, sans ravitaillement, mangeant ce qui restait aux morts, mes quatre mitrailleuses [illegible] et hors service, avec, pour toute arme, quelques grenades. Un de mes hommes eut les jambes emportées par un obus. La blessure était horrible : on ne savait plus où le corps finissait : ce n'était qu'un mélange de terre, de capote, de chair et d'équipement. Deux camarades penchés sur lui le regardaient mourir ; et, entre les rafales d'obus, on les entendait qui répétaient comme une plainte : « C'était la fleur de chez nous... la fleur de chez nous ».

Pauvres petits fantassins : la plupart frappés, broyés au cours des combats, sont morts sans se plaindre, s'excusant souvent d'encombrer de leurs corps en lambeaux, les parallèles d'attaque et les abris trop étroits.

Quelques données générales sur le Pancréas et ses produits de sécrétion

LE PANCRÉAS. — Le Pancréas est une glande s'étendant transversalement dans la cavité abdominale. Il est situé chez l'homme au niveau des première et deuxième vertèbres lombaires, en arrière de l'estomac, et dissimulé par lui ; il a une forme allongée, aplatie, un aspect granuleux et une couleur grisâtre. Il mesure de 15 à 16 cm. de longeur sur 3 à 4 cm. de largeur et seulement à peine 1 cm. d'épaisseur. Son poids est de 60 à 80 grammes. Son extrémité droite, volumineuse (tête du pancréas) remplit la cavité formée par l'anse du duodénum, puis il s'effile progressivement et va se terminer (queue du pancréas) près de la rate.

Cette glande, ouverte, laisse apercevoir sur toute sa section un conduit de la grosseur d'une plume d'oie dit : « Canal de Wirsung » qui chemine de gauche à droite et va s'ouvrir à côté du canal cholédoque par un orifice distinct, au fond d'une sorte de petit entonnoir, formé par la paroi intestinale et appelé : « Ampoule de Vater ».

Il existe également chez presque tous les mammifères un second conduit (canal accessoire ou de Santorini) qui s'anastomose avec le premier dans la région de la tête du pancréas par une grosse branche ou parfois par plusieurs, et s'ouvre dans le duodénum à 2 cm. environ au-dessous du canal principal.

Sur toute l'étendue de ces deux canaux, débouchent des canaux secondaires qui reçoivent à leur tour de multiples affluents et ainsi de suite jusqu'aux petits canaux microscopiques qui se terminent chacun par un acinus, petite ampoule dont les parois sont formées de cellules sécrétrices de type

particulier. Ce sont des éléments prismatiques ayant à leur centre un noyau sphérique ; le protoplasma contient dans la partie interne (entre le noyau et la cavité de l'acinus) une série de granulations découvertes par Haidenhain ; elles se colorent légèrement en brun par l'acide osmique et se dissolvent dans l'eau ; elles constituent la matière zymogène du pancréas qui, par adjonction d'eau produit le ferment pancréatique.

Le pancréas est donc une volumineuse glande en grappe et c'est pourquoi les anciens anatomistes qui ignoraient ses fonctions et ne connaissaient que sa structure l'appelaient : « la glande salivaire de l'abdomen ».

D'autre part, entre les acini glandulaires, se trouvent des amas glandulaires dénommés (îlots de Langerhans — points folliculaires de Renaut). Ces îlots sont formés de cellules d'origine épithéliale, et apparaissent chez le fœtus dès le début du 3e mois, par différenciation de cordons pleins (îlots primaires) ou de cavités secrétantes (îlots secondaires de Laguesse). Ils persistent toute la vie. Leur importance physiologique est considérable, car c'est d'eux que semble dépendre la sécrétion interne, d'où le nom d' « îlots endocrines » que leur a donné LAGUESSE, en 1893.

PRODUITS DE SÉCRÉTION DU PANCRÉAS. — On voit donc, d'après cet exposé succinct que le pancréas possède un double rôle :

1° *Production de ferments par les acini :* ferments centralisés par les canaux de Wirsung et de Santorini et venant se déverser dans le duodénum sous le nom de suc pancréatique.

2° *Sécrétion interne :* provenant très probablement de l'activité des îlots de Langerhans.

I. *LES FERMENTS.* — Les ferments du pancréas sont nombreux et variés. D'aucuns sont peu connus et d'existence douteuse même.

Les trois principaux groupes sont :

Le groupe amylolytique : découvert par Valentin, mélange de plusieurs ferments (amylase, dextrinase, maltase) qui, par des hydratations successives et spécifiques de chacun d'eux, transforment l'amidon en glucose, avec presque toujours des

résidus des différents termes de passage : maltose, acrodextrines, etc.

Le groupe protéolytique : mélange complexe aussi de ferments, albumases, nucléinases, etc., dont l'action s'exerce sur les albuminoïdes, à la façon de la pepsine, mais avec un pouvoir dégradant bien plus énergique.

Le groupe lipolytique ou stéaptasique, comprenant au moins un ferment émulsionnant et un ferment saponifiant (peut-être aussi une lécithase), et qui agit sur les graisses et un certain nombre d'éthers qu'il émulsionne et saponifie.

Enfin, on a cru découvrir dans les produits du pancréas une *lactase* et une *invertine*.

Ces ferments semblent d'existence bien douteuse. GLAESSNER les nie tous deux. IBRAHIM et KANNHEIMER qui ont étudié spécialement la lactase affirment que le pancréas des enfants nouveaux-nés n'en contient pas et que pendant l'allaitement, cette diastase n'apparaît pas dans la glande.

Par contre, la même année, STOKLASA, opérait sur des pancréas de porc qu'il épuisait une fois avec de l'eau froide, puis mêlait à du sable et exprimait à 400-450 atmosphères. Du suc obtenu, il précipitait les diastases par l'alcool et l'éther. Or, la poudre, ainsi recueillie, très sensible à l'action des antiseptiques (NaF, en particulier) n'attaquait pas le glucose, le lévulose et le galactose, mais elle dédoublait le saccharose et le lactose, et, les hexoses formés étaient aussitôt décomposés avec production de co^2, alcool et acide lactique. Comme on le voit, d'après l'auteur, les ferments ne se trouveraient pas dans le suc pancréatique éliminé par le lavage, mais seraient produits par les cellules à sécrétion interne. Quoi qu'il en soit, dans la poudre de pancréas, ces diastases n'agissent pas comme le prouvent les deux expériences que j'ai faites à ce sujet.

Me basant sur les données des auteurs, j'ai opéré sur des solutions de lactose et de saccharose à 10 % et dans aucun cas, je n'ai trouvé de co^2 — de traces d'acidité — d'acide lactique ou de glucose.

Voici la technique que j'ai suivie :

Deux fioles d'Erlenmeyer de 250^{cc} (I et II) reçoivent chacune 100^{cc} d'une solution de saccharose à 10 %. L'une de ces fioles est bouchée avec un bouchon de liège ordinaire ; l'autre (I) avec un bouchon percé dans lequel passe un tube de verre recourbé qui va plonger de l'autre côté dans une fiole

contenant de l'eau de chaux, préparée au moment même de l'expérience et d'une limpidité parfaite.

J'ajoute alors dans la fiole I 0 gr. 10 de pancréatine et je porte à l'étuve les deux fioles I et II pendant deux heures à la température de 40°.

L'auteur indiquait que les sucres réducteurs formés par le dédoublement du saccharose étaient décomposés immédiatement en co^2 et acide lactique. J'ai donc exécuté les réactions suivantes :

1° *Pour déceler la présence de* co^2 : Les gaz s'échappant de la fiole I étaient reçus au moyen du tube de verre recourbé dans la fiole à eau de chaux. Après deux heures, je n'ai pas observé le moindre trouble dans cette eau de chaux.

2° J'ai essayé d'identifier *l'acide lactique.*

A) en prenant le degré d'acidité de la liqueur après digestion. Or cette acidité était nulle et même la réaction à l'hélianthine était alcaline.

B) Par le procédé Berg (réaction des acides alcools) :

Dans un vase contenant 100^{cc} d'eau, on verse deux gouttes de perchlorure de fer (solution officinale), puis deux gouttes de solution officinale d'acide chlorhydrique. Le liquide pratiquement incolore, doit, si l'on ajoute un acide-alcool, prendre une teinte jaune.

Or dans le cas présent cette teinte jaune ne s'est produite.

3° Enfin, j'ai vérifié *s'il s'était formé des sucres réducteurs* non décomposés et pour ce, j'ai fait un dosage par la méthode G. Bertrand, exposée plus loin, en opérant au bain-Marie, avec des précautions pour éviter l'erreur due à l'inversion du saccharose dans la liqueur cupro-alcaline.

Voici les résultats, exprimés en glucose :

Témoin = 0 gr. 025 — pour 20 cc. de prise d'essai
Digestat = 0 gr. 024 — pour 20 cc. de prise d'essai.

La pancréatine n'a donc pas transformé de saccharose en sucre réducteur.

J'ai en outre recommencé la même série d'expériences avec une solution de lactose et les résultats ont également tous été négatifs.

QUELQUES PROPRIÉTÉS DES FERMENTS. — Tous ces ferments du pancréas, à quelque groupe qu'ils appartiennent

possèdent comme propriété générale, d'agir en milieu neutre, avec maximum d'activité en milieu légèrement alcalin solution de $co^3 Na^2$ à 0.5%.

Ils sont annihilés et même détruits par une acidité très faible. Les ferments amylolytiques et lipasiques dans la poudre de pancréas, ne résistent pas à une macération de deux heures à 36° centigrades dans une solution chlorydrique à 0 gr. 90 d'Hcl gazeux‰

Ils sont moins sensibles aux alcalins, quoique cependant une alcalinité supérieure, à celle citée ci-dessus, diminue leur pouvoir et arrive à l'inhiber complètement.

Je dirai aussi que leur action, comme celle de tous les catalyseurs biologiques du reste, est nettement spécifique. « C'est la clef qui n'ouvre qu'une serrure », comme a dit Fischer.

Quant aux propriétés particulières, elles seront examinées au fur et à mesure de l'étude de chaque ferment. Qu'il me suffise ici de rappeler que ces propriétés sont toutes différentes soit que l'on considère le ferment — *à l'état pur* (après dialyse, ou recueilli par fistule du canal de Wirsung) — *dans la poudre de pancréas sèche* — ou *dans la poudre de pancréas, en solution.*

C'est ainsi que le ferment bien pur est inactif par lui-même et a besoin pour agir de certaines substances tandis que le ferment contenu dans la poudre de pancréas ou ses solutions agit sans action d'aucun activant même sur des amidons complètement déminéralisés (procédé Malfitano-Moschoff) et transformés en empois avec de l'eau bidistillée exempte de sels.

C'est ainsi également que la résistance à la chaleur change radicalement suivant la pureté du ferment et suivant que ce ferment lorsqu'il est impur se présente sous forme de poudre ou en solution.

Par exemple, en *solution aqueuse,* le ferment protéolytique est déjà atteint par un chauffage de vingt-quatre heures à 36°. D'après LŒW, il est détruit à 69-70°, d'après d'autres vers 60°, divergences, écrit JAVILLIER, « qui doivent provenir de la durée de la chaleur et de la pureté des produits ». En tous cas, au-dessus de 70°, le ferment meurt.

En poudre sèche, au contraire, il peut supporter 160° pendant au moins une heure et n'est détruit que vers 170°.

Le ferment amylolytique également, détruit en poudre

sèche vers 110° ne peut supporter en solution une température supérieure à 80°. Il est donc, fait d'ailleurs constaté par maints auteurs, plus sensible que le ferment typsique en poudre sèche et moins sensible que lui en solution.

Quant au ferment lipasique, un séjour de une heure dans de l'eau bidistillée à 37° lui est déjà nuisible et, il a perdu les trois quarts de son activité, à cette température, au bout de quelques heures.

En poudre sèche, par contre, il est très stable et se conserve de longs mois sans altération.

En résumé, l'on peut dire d'une façon absolument générale que, *plus le ferment est pur, plus il est sensible, soit aux antiseptiques soit à la chaleur, soit à la lumière.*

II. — *LA SÉCRÉTION INTERNE.* — Outre les ferments, il existe dans la poudre de pancréas des produits de sécrétion interne. Cette sécrétion interne, découverte en 1889, par VON MERING et MINKOWSKI est démontrée aujourd'hui par la clinique (diabète pancréatique par atrophie de la glande), et par l'expérimentation (l'extirpation totale du pancréas étant suivie de symptômes de diabète et la persistance d'un fragment de l'organe, même sans rapport avec l'intestin, empêchant les accidents).

Cette action sur le sucre a été expliqué par LÉPINE par l'hypothèse du ferment glycolytique sécrété par le pancréas ; l'Hyperglycémie consécutive à l'extirpation de la glande résulterait de l'impuissance de l'organisme à consommer le sucre normalement formé.

Pour CHAUVEAU et KAUFFMANN, la sécrétion interne du pancréas aurait un rôle inhibiteur sur le foie et l'Hyperglycémie diabétique serait due à une surproduction du sucre par défaut de cette action modératrice.

Pour GLEY enfin, cette sécrétion interne transformerait la glucose en glycogène et le fixerait dans le foie.

Je n'insisterai d'ailleurs pas sur cette question qui n'est pas de mon ressort et nécessiterait des observations cliniques et de nombreuses expérimentations « in vivo ». Il suffit de savoir que cette sécrétion interne est nettement prouvée, que ses produits ne se trouvent pas dans le suc pancréatique, mais existent dans la poudre de pancréas, et que l'absorption de cette poudre de

pancréas peut remédier à une sécrétion déficitaire des cellules endocrines de l'organe.

Il sortirait également du cadre de ce travail de condenser ici l'étude détaillée de tous les ferments du pancréas et, j'ai dû me borner à étudier particulièrement le ferment amylolytique dans la poudre de pancréas, envisagé surtout du point de vue pharmaceutique.

Puis, dans une deuxième et troisième partie, j'examinerai les ferments protéolytique et lipolytique, toujours au même point de vue pharmaceutique, mais, en me contentant de chercher à éclairer certains points restés obscurs.

Enfin, dans une quatrième partie, je donnerai un aperçu des différentes méthodes de préparation de la poudre de pancréas et des formes pharmaceutiques sous lesquelles est administrée d'ordinaire cette poudre. J'étudierai, à ce sujet, « in vitro » l'influence de l'acidité stomacale sur les ferments précités, influence primordiale puisque la poudre doit arriver inattaquée dans le duodénum, et d'après mes conclusions, j'indiquerai les préparations qui me semblent devoir être mauvaises ou médiocres, et comment la poudre de pancréas devrait être absorbée pour garder son maximum d'activité.

PREMIÈRE PARTIE

L'AMYLASE DANS LA POUDRE DE PANCRÉAS

DÉFINITION. — On désigne sous le nom générique d'amylase, un ensemble de ferments, qui, mis en présence d'amidon et dans certaines conditions, le liquéfient d'abord, puis le transforment chimiquement en dextrines et maltose. « Dans cet ensemble », dit FERNBACH, « il faut au moins distinguer trois diastases, une diastase liquéfiante qui solubilise l'amidon, une diastase dextrinisante, qui fait passer l'amidon soluble à l'état de dextrines, et une diastase saccharifiante proprement dite, qui transforme les dextrines par fixation d'eau en maltose. »

ACTION DE L'AMYLASE. — L'amylase agit sur l'amidon transformé en empois par la chaleur, mais a une action certaine quoique très faible sur l'amidon cru. J'ai fait agir sur de la fécule de pomme de terre lavée à l'eau distillée neutre et délayée dans l'eau, de la pancréatine à température variable pendant *n* heures. Les chiffres suivants indiquent aux différentes températures et pour différentes durées de digestion les quantités de sucre réducteur formé, quantités qui dans tous les cas, sont à peu près pratiquement négligeables.

PANCRÉATINE	HEURES	TEMPÉRATURE	FÉCULE	EAU	SUCRE REDUCTEUR FORMÉ
0 gr. 10	6 h.	35°	6 gr.	100 cc.	0 018
0,10	7	35	6	100	0,020
0,10	1 1/2	37	6	100	Traces
0,10	1	40	6	100	0,050
0,10	2	40	6	100	0,090

Je n'ai pas dépassé la température de 40° parce que, à une température supérieure, le grain d'amidon gonflé, commence à éclater, et les expériences n'auraient plus aucune valeur.

Une remarque très intéressante a été faite au sujet de l'action de l'amylase sur l'amidon. MAQUENNE et ROUX, ont montré que l'amidon est en réalité un mélange de deux substances ; l'une la matière amylacée vraie, qu'ils ont appelée amylose se colore en bleu par l'iode et constitue la partie intérieure du grain d'amidon. L'amylase la transforme en dextrines, mais ce terme est à peine saisissable, car la dextrinase la fait passer presque immédiatement à l'état de maltose. L'autre, l'amylopectine, colorée en bleu violacé par l'iode forme l'enveloppe du grain, et c'est elle et non l'amylose qui confère à l'amidon la propriété de donner des empois. L'amylase la transforme en dextrines mais la dextrinase agit sur elle bien moins rapidement que sur l'amylose et ne la transforme en maltose qu'après un temps assez long.

A cette amylase complexe, se trouve également associée, dans la poudre de pancréas (*Brown, Héron, Bourquelot*) ainsi que dans le suc pancréatique, une maltase qui hydrate en partie les sucres de maltose formés par l'action de l'amylase salivaire et pancréatique et les dédouble en deux molécules de glucose. Cette maltase, dit-on, n'existerait pas chez l'homme.

IDENTIFICATION DES DIFFÉRENTS FERMENTS. — L'existence de ces ferments, qui constituent le pouvoir amylolytique est d'identification relativement aisée, car, ils n'ont pas la même résistance à la chaleur, et peuvent d'ailleurs exister l'un sans l'autre. Ainsi, il est facile de dissocier dans l'extrait de malt, l'action de la diastase liquéfiante et de la diastase saccharifiante, et POTTEVIN a montré que le chauffage à 80° pendant 35 minutes détruisait la propriété saccharifiante tout en laissant persister en grande partie la propriété liquéfiante.

J'ai moi-même, au cours de mes expériences réussi plusieurs fois à annihiler complètement le ferment saccharifiant sans altérer sensiblement le ferment liquéfiant.

C'est ainsi qu'une pancréatine macérée deux heures et demie dans une solution chlorydrique de 60^{cc}, à 1 gr. 30 Hcl gazeux $^{0}/_{00}$, en présence de 2 grammes de fibrine de porc et 0 gr. 10 de pepsine, ne fournissait, après neutralisation et digestion sur empois d'amidon à 6 %, aucune trace de sucre

réducteur, mais liquéfiait parfaitement cet empois en quelques minutes.

C'est ainsi également qu'une solution de poudre de pancréas conservée par moi dans l'eau chloroformée à saturation, et exposée à la lumière à une température de + 20 à 25°, avait au bout de 10 jours perdu à peu près complètement son pouvoir saccharifiant (0 gr. 04 de maltose formé pour une digestion Codex) tandis que le pouvoir liquéfiant restait entier et me donnait un digestat aussi fluide que le témoin.

Inversement, FERNBACH et WOLFF ont démontré que l'extrait d'orge non germé jouissait de la propriété de saccharifier un amidon soluble, mais ne pouvait liquéfier un empois.

LISBONNE, enfin, a opéré cette dissociation sur l'amylase salivaire au moyen des sels alcalins co^3Na^2 et NaoH, qui, à certaines doses, et dans certaines conditions, laissent intacts le ferment liquéfiant, et sont inhibants pour le ferment saccharifiant.

Quant à la maltase de la pancréatine, on peut découvrir sa présence, en identifiant les glucosazones formés par la phénylhydrazine, dans un digestat d'empois.

IDENTITÉ DES AMYLASES. — Les ferments amylolytiques sont des plus répandus dans la nature. Ils existent très actifs dans la plupart des organismes animaux et végétaux (pancréas, glandes salivaires, orge, pomme de terre), et dans des produits de sécrétion divers (urine, sérum, sueur, etc.)

On a fréquemment émis l'opinion que tous ces ferments amylolytiques — animaux ou végétaux — étaient, à l'état pur, absolument semblables. La question, actuellement, n'est pas encore résolue. Les partisans de l'amylase unique, s'efforcent de prouver que les différences d'action des différents ferments amylolytiques (maximum d'activité, vitesse d'hydrolyse, sensibilité à la chaleur, aux acides, etc), sont dues à des causes extérieures au ferment. Si l'on opère, a écrit en substance PUGLIESE, sur des amylases extraites de la salive, de *l'Eurotium Orizæ*, du malt, purifiées toutes trois par précipitation par l'alcool, on observe bien des différences dans la vitesse de saccharification ,mais une fois qu'elle est terminée, le pouvoir réducteur est le même pour ces diastases, quelle que soit la température où on les a portées au préalable.

« Un autre argument de grande valeur », écrit LISBONNE

« plaide encore en faveur de l'identité des amylases : l'identité d'action des acides. Je ne fais que rapporter les observations de *Kjehldahl*, de *Fernbach*, d'une part, de *Sydney Cole*, de l'autre, d'après lesquelles de petites traces d'acide augmentent considérablement l'action des amylases, aussi bien d'origine végétales (malt) qu'animales (ptyaline, amylopsine) ».

Par contre, FERNBACH en 1911, reconnaît « que l'on s'était peut-être un peu trop hâté de généraliser et d'étendre les faits observés (avec le malt) aux amylases ayant d'autres origines. »

Et LISBONNE, après avoir remarqué que « lorsqu'on se place dans des conditions d'expérimentation plus rigoureuses que celles qu'on avait réalisées jusqu'ici, on observe que les amylases d'origine animale ne sauraient en aucune façon fonctionner en milieu neutre à l'Héliantine, milieu où précisément l'amylase du malt trouve son optimum d'action », termine en affirmant « que la radicale opposition qui se manifeste dans les réactions de milieu que réclament pour traduire une activité, ces deux catégories d'amylases, nous autorise à conclure nettement à la non identité des amylases d'origine animale et végétale ».

OBJET DE L'ÉTUDE. — C'est cette amylase pancréatique complexe que je me propose maintenant d'étudier, non pas à l'état pur et après dialyse, mais telle qu'elle se présente dans la poudre de pancréas commercial, c'est-à-dire, activée par la kinase leucocytaire et les sels, et enrobée pourrait-on dire, dans des substances protéiques, au milieu d'autres ferments.

Je resterai, évidemment sur le terrain pharmaceutique, me bornant à prendre comme point de départ le Codex français et tâchant de le suivre pas à pas, en montrant au fur et à mesure ses qualités, ses imprécisions et ses lacunes auxquelles je m'efforcerai de remédier.

MÉTHODES DE DOSAGE DES SUCRES RÉDUCTEURS. — Mais tout d'abord, il importait de me mettre en main une méthode de dosage des sucres réducteurs, sûre, précise et indépendante autant que possible de l'opérateur quant aux résultats.

J'avais à ma disposition de nombreuses méthodes, ayant

évidemment, comme toute invention humaine leurs qualités et leurs défauts :

1° *Méthode polarimétrique*, d'emploi bien délicat ici, à cause des mélanges de produits formés, et, qui serait devenue inexacte dans des expériences où j'ai employé un gramme de pancréatine donnait certainement naissance pendant la digestion à des acides animés à pouvoir rotatoire.

2° *Méthodes nombreuses* basées toutes d'ailleurs sur la réduction par les Bioses de la liqueur de Fehling avec transformation de l'hydrate cuivrique en oxydule de cuivre ; parmi celles-ci je citerai :

α) *La méthode directe*, connue de tous, la plus parfaite disent les uns, à mon avis un peu imprécise et surtout très subjective quant aux termes de la réaction ; donnant d'autre part des résultats différents suivant l'éclairage et surtout le chauffage de la liqueur cuivrique et la vitesse avec laquelle on y verse la solution sucrée.

β) *Les procédés Causse Bonnans* au ferrocyanure et *Francis Lavalle* à la soude au $\frac{1}{3}$, simples modifications de la méthode précédente, qui ont amélioré sensiblement la méthode directe pour ce qui est de la visibilité du terme de la réaction, mais contiennent les mêmes imprécisions, relativement au chauffage et à la vitesse de l'opération.

γ) *Le procédé Lehmann*, modifié par Grimbert, d'une technique parfaite, précise au milligramme, très objective, mais auquel j'ai préféré la *MÉTHODE DE G. BERTRAND*, que j'ai employée pour toutes mes expériences, non pas parce que meilleure, mais uniquement parce que, possédant les mêmes qualités, elle m'a semblé d'un usage moins délicat, n'exigeant qu'une solution titrée (NaO^4K à 5 gr. $\frac{0}{00}$) au lieu de trois, solution de plus d'un usage courant, facile à titrer par l'oxalate d'ammoniaque, et d'assez bonne conservation à l'abri de l'air et de la lumière.

Je n'exposerai pas cette méthode en détail ; elle se trouve expliquée dans tous les ouvrages de chimie où il est question de sucres réducteurs. Je me contenterai d'en citer le principe énoncé par G. Bertrand lui-même et Thomas dans leur « *Guide pour les manipulations de chimie biologique* » et de noter seulement quelques précisions de détail que j'y ai apportées.

« On fait », écrit BERTRAND, « bouillir un excès de solution alcaline d'oxyde de cuivre avec un volume connu de la solution de sucre à doser. L'oxyde cuivreux précipité est ensuite dosé volumétriquement à l'aide d'une méthode dont le principe a été indiqué autrefois par Mohr. Cette méthode consiste à traiter l'oxydule de cuivre par une solution acide de sulfate ferrique. L'oxydule se dissout à l'état de sulfate de cuivre ordinaire, tandis qu'une proportion correspondante de sel ferrique passe à l'état de sel ferreux :

$$Cu^2O + (SO^4)^3Fe^2 + SO^4H^2 = 2SO^4Cu + H^2O + 2SO^4Fe$$

On dose ce dernier par MnO^4K et l'on peut ainsi, en s'appuyant sur l'équation ci-dessus, calculer la quatité de cuivre qui a été réduite par le sucre. »

G. Bertrand a en outre pour faciliter les opérations, dressé des tables qu'il suffit de consulter pour passer immédiatement de la teneur en cuivre à la teneur en sucre : Glucose, Lévulose) Galactose, Maltose.

Les quelques précisions que j'ai cru utiles de signaler ont trait au chauffage :

Il est de toute nécessité de porter le mélange liqueur de Fehling solution sucrée *lentement* à l'ébullition et de ne pas laisser se produire pendant les trois minutes, d'ébullition trop tumultueuse. Les perturbations dans la réduction de la liqueur de Fehling, qu'avaient remarquées SAILLARD, MAQUENNE, CANALS pour les mélanges : solution cuproalcaline, solution de saccharose-glucose, se produisent également quoique avec moins d'intensité pour les digestats d'empois par la poudre de pancréas.

J'ai, à plusieurs reprises, remarqué ce précipité de Cu^2O « orangé clair » qui, dit encore Canals « ne se dépose pas facilement au fond du récipient, ce qui facilite sa réoxydation pendant le repos ».

J'ai alors essayé suivant les indications de cet auteur le Bain-Marie à 100°. Vingt minutes sont suffisantes pour opérer la réaction totale, même avec le maltose, et jamais dans ce cas je n'ai eu de déboires. Malheureusement, l'opération se trouve considérablement augmentée en durée, si bien que je suis revenu au procédé de chauffage direct, mais en ayant soin de provoquer l'ébullition du liquide seulement après deux minutes et demie à trois minutes de chauffage, ce que j'obtenais très

régulièrement en réglant la flamme du Bunsen de façon qu'elle produise sur la toile métallique une tache rouge de la dimension d'une pièce de un franc.

Il est également très important, lorsqu'on opère sur des séries de deux ou trois vases, et que l'on désire obtenir des dosages de grande précision, « de se servir toujours » comme l'a indiqué Canals, « de récipients ayant toujours le même diamètre ».

EXAMEN DU PROCÉDÉ CODEX D'ESSAI DU POUVOIR AMYLOLYTIQUE

En possession d'une bonne méthode de travail, je vais maintenant examiner le procédé d'essai du pouvoir amylolytique de la pancréatine, ordonné par le Codex Français actuellement en vigueur.

« Préparez », y est-il écrit, « 100 grammes d'empois renfermant 5 grammes de fécule de pommes de terre (préalablement lavée et desséchée à + 38° et quantité suffisante d'eau distillée bien neutre). Ajoutez 0 gr. 05 de pancréatine pure, chauffez à 55° au bain-marie ou à l'étuve et maintenez cette température une heure, en agitant de temps en temps. Vous devez obtenir un liquide fluide, filtrant facilements et réduisant à l'ébullition quatre fois son volume de solution cupro alcaline titrée. »

Le supplément de 1920 apporte une petite modification en ordonnant d'employer 6 grammes de fécule au lieu de 5 grammes. Il diminue donc légèrement le titre amylolytique de la pancréatine puisque la quantité de sucre formé croit de façon variable mais toujours en raison directe de la quantité d'amidon mise en œuvre. Il est, en effet, bien difficile, industriellement, de dépasser beaucoup ce titre, de façon constante au moins. Il faudrait pour obtenir des résultats très supérieurs faire un triage des animaux jeunes, leur administrer des injections de secrétine, sous forme par exemple, de macération de muqueuse duodénale ou jéjunale dans l'acide chlorhydrique à 5 $^{0}/_{00}$, ou autres excitants de la secrétion pancréatique et les sacrifier en pleine digestion après un repas copieux. Ces conditions sont faciles à réaliser à titre d'essai, mais impossibles à pratiquer industriellement, sous peine de voir la pancréatine interdite à cause de son prix au commun des mortels.

Cet essai Codex, malgré sa valeur relative contient un certain nombre de lacunes et d'imprécisions que je m'efforcerai de mettre en relief.

J'étudierai d'abord la *matière passive*, la fécule de pomme de terre, puis la *matière active*, la diastase et son mode d'action, enfin *l'essai* lui-même, et comment, à mon avis, on pourrait le perfectionner et le compléter.

I. — LA MATIÈRE PASSIVE

C'est assez improprement que l'on appelle matière *passive*, (comme l'herbe que broute l'animal et qui, parfois vénéneuse le tue), un élément de la pureté duquel dépend l'activité de la pancréatine, qui, plus ou moins riche en sels activants ou inhibants, plus ou moins bien tamisé, peut rehausser la valeur d'une pancréatine ou faire considérer comme mauvais un excellent produit.

J'ai cependant conservé ce terme parce que malgré la réserve faite, il s'oppose bien au terme — matière active — donné au ferment, et que d'autre part, on peut expliquer le terme passif au sens latin du mot « patior » c. a. d. matière qui subit l'action du ferment.

Cette matière passive est la *fécule de pommes de terre*, adoptée judicieusement par le Codex, parce qu'elle est l'amidon dont la fabrication est le plus uniforme et qu'elle contient très peu de matière grasse.

SON IMPORTANCE. — Dès mes premières expériences sur la diastase amylolytique de la poudre de pancréas, je me suis aperçu qu'avec une même pancréatine, le titrage variait quelque peu toujours, à chaque changement de fécule. Cette fécule, je la prenais dans plusieurs pharmacies mais fournies par la même droguerie : le produit venait donc probablement de la même usine. Intrigué cependant, par ces variations continuelles, je me procurai de nombreux échantillons différents de fécule de pommes de terre (une vingtaine) dans les drogueries les plus sérieuses.

...

TECHNIQUE. — Pour tous ces échantillons, j'ai procédé rigoureusement de la façon suivante :

Je prélevais 80 grammes de fécule que je lavais à quatre reprises à l'eau distillée bien neutre. J'essorais au Büchner et j'étalais la fécule avec une spatule de verre, sur un plateau ou

une plaque de verre. Je faisais cette opération le soir et portais immédiatement à l'étuve à + 38°. Le lendemain matin, j'opérais sur cette fécule, après avoir dosé l'humidité, qui, de cette façon oscillait toujours entre 7 et 8 %.

Mes digestions étaient conduites d'une façon absolument identique, aux quantités Codex, avec une excellente étuve, montre en main, et de la façon que j'indiquerai plus loin. Pour chacune d'elles, je me suis servi de la même pancréatine (I) récemment préparée et conservée à l'abri de la lumière et en flacon à exsicateur.

Or, voici les résultats trouvés. Chacun de ces résultats est la moyenne de deux et fréquemment de trois dosages, exécutés à jours différents très semblables toujours d'ailleurs. Ils ont, du reste, été communiqués au Congrès de l'A.F.A.S. à Montpellier, en 1922 et publiés dans le Bulletin de pharmacie du Sud-Est, en collaboration avec M. Astruc.

Le tableau ci-après porte la teneur en maltose, et, pour plus de clarté, les séries d'essais ont été classées par doses croissantes de sucre réducteur formé.

100 gr. d'empois à 6 0/0 -- Digestion = 1 heure à 55° -- Pancréatine (I) = 0 gr. 05

PANCRÉATINE	FÉCULE EMPLOYÉE 16 échantillons	MALTOSE OBTENU	
I	A	2 gr. 35	
I	B	2,60	Non codex
I	C	2,65	
I	D.E.F	2,75	
I	G	2,95	Douteux
I	H.I.J	3,10	
I	K.L.M	3,10	Codex
I	O	3,50	Excellente
I	P	3,70	pancréatine

Aucune erreur de manipulation ne semble possible, car en recommençant, à des intervalles de huit et dix jours, les expériences, avec nouveau lavage et nouveau séchage de nouvelles prises d'essais de 80 grammes des différents lots de fécule, les résultats concordaient à quelques centigrammes près.

La même pancréatine (I) par conséquent, travaillant dans des conditions identiques, sera cotée comme nettement mau-

vaise avec la fécule A, et absolument supérieure avec la fécule P.

D'où peuvent provenir ces différences ?

Deux facteurs, semble-t-il, pouvaient particulièrement intervenir :

L'âge de la pomme de terre ;
La façon de préparer la fécule.

L'AGE DE LA POMME DE TERRE. — A ce sujet, j'ai préparé moi-même de la fécule en partant : 1° de pommes de terre nouvelles et très belles ; 2° de pommes de terre vieilles de un an et demi, à demi pourries et desséchées.

La préparation a été opérée de façon identique par pulpage à la râpe et lavage sur tamis de soie 80 sous filet d'eau. La fécule recueillie dans un grand récipient était lavée à l'eau distillée par décantations successives d'abord, pour enlever la pellicule noirâtre déposée à la surface, puis malaxée dans trois eaux successives et essorée enfin au Büchner.

Or, dans toutes les expériences, conduites dans les conditions Codex avec la même pancréatine (I) dont j'ai parlé plus haut, il a été trouvé 3 gr. 10 à 3 gr. 16 de sucre réducteur exprimé en maltose.

L'âge de la pomme de terre ne semble donc avoir aucune influence sur la résistance du grain d'amidon à la saccharification.

LA FAÇON DE PRÉPARER LA FÉCULE. — En second lieu, la façon de préparer la fécule présente-t-elle de l'importance sur sa saccharification ?

On sait qu'industriellement, la fécule se prépare d'une façon très simple, et exactement comme je l'ai préparée moi-même au laboratoire par pulpage des pommes de terre, et lavage de cette pulpe déposée sur tamis sous filet d'eau ; c'est même, comme je le disais antérieurement, une des raisons pour lesquelles le Codex l'a choisie entre tous les amidons, dont la préparation est beaucoup plus complexe et diffère suivant les usines. Cette préparation comprend le plus souvent, au préalable, une fermentation des graines de 8 à 10 jours au moins, puis une mouture, fermentation et mouture qui peuvent avoir des répercussions énormes sur la constitution du grain d'amidon.

Et cependant cette préparation si simple en apparence de la fécule est certainement la principale cause de sa diversité d'attaque par les diastases. Les facteurs importants, à ce point de vue, semblaient être à priori :

L'eau de lavage ;
Le tamisage ;
La température de dessication.

a) L'EAU DE LAVAGE. — On ne peut évidemment industriellement laver la fécule à l'eau distillée. On se contente d'utiliser l'eau du puits de l'usine. Or, on conçoit très facilement que, suivant que cette eau est chargée de sels activants ou inhibants, le grain d'amidon acquiert des propriétés nouvelles. Le lavage à l'eau distillée au laboratoire avant la fabrication de l'empois enlèvera bien les sels solubles, mais malheureusement, resteront des sels devenus insolubles dans l'eau (bicarbonates transformés en carbonates au moment de la dessication ou lentement, par différents agents atmosphériques) et d'autres sels qui auront formé des combinaisons nouvelles avec le grain d'amidon lui-même (phosphates, sels de chaux et de silicium).

Au sujet de l'importance des eaux de lavage, une sommité scientifique (1), qui s'est beaucoup occupée de la question amidons, me lisait une lettre qu'elle venait de recevoir d'un de ses correspondants. Ce correspondant, directeur d'une féculerie Belge, manquant d'eau, avait fait creuser un puits, à proximité de l'usine. Or, *toutes les fécules lavées à l'eau de ce puits perdaient leurs propriétés d'être liquéfiées et saccharifiées par les diastases.*

b) LE TAMISAGE. — Le tamisage également joue un grand rôle dans la valeur de la fécule et je l'ai particulièrement mis en lumière avec M. Astruc, dans le Journal de Pharmacie et de Chimie.

On sait que la fécule de pommes de terre se compose de grains de différentes grosseurs, qu'on pourrait un peu arbitrairement classer en trois groupes : *gros, moyens, petits.* Or, la teneur en éléments minéraux n'est pas la même pour chacun

(1) M. le professeur Fernbach.

de ces groupes : les petits contenant plus de matière minérale et surtout de phosphore que les plus gros. Si donc, on passe la fécule à un tamis trop petit, les petits grains seuls passeront et le produit obtenu sera plus riche en sels et surtout en phosphore. Il est facile d'en déduire les conséquences.

Dans un autre ordre d'idées, plus les grains seront petits, plus grand en sera le nombre dans les six grammes de fécule employée et par conséquent plus il y aura pondéralement de membrane, de même qu'il faut plus de papier pour envelopper dix pommes séparément, que pour les réunir en un paquet unique. Or, Maquenne et Roux que j'ai déjà cités ont démontré que cette membrane formée d'amylopectine était très difficilement transformée en maltose par l'amylase. Pour cette raison, les grains petits seront donc moins complètement attaqués que les gros.

Les causes retardatrices et accélératrices de la saccharification coexistent donc, semble-t-il, et parfois s'annuleront. Malheureusement, souvent une des causes prédominera sur l'autre et pourra entraîner des différences notables comme le démontrent les expériences suivantes :

1re *expérience.* — Tamisation à différents tamis de 500 grammes de fécule de pomme de terre et, avec le produit des différentes tamisations, fabrication d'empois et dosages aux conditions codex.

Résultats :

TAMIS	SUCRE FORMÉ (en maltose)	CARACTÈRES DE LA FÉCULE
Témoin non tamisé	2,75	Fécule grossière ayant laissé passer un résidu infime au Tamis 120 et à peine les 6 gr. nécessaires au Tamis 140.
Tamis 100	2,80	
Tamis 120	2,90	
Tamis 140	3	

Dans cette expérience, la saccharification croît donc de façon très régulière en raison directe de la finesse du tamis.

2me *expérience.* — Faite avec une autre fécule. Je me suis servi ici du résidu de chaque tamis après tamisage poussé à fond. La sélection est ainsi plus grande. Le résidu du tamis 120 par exemple ne contient que des grains entre 100 et 120 et non toute la série des grains plus fins.

Résultats :

TAMIS	SUCRE FORMÉ (en maltose)	CARACTÈRES DE LA FÉCULE
Résidu du *Tamis* 100	2,05	Fécule très fine, ne laissant aucun résidu au Tamis 80, très peu au Tamis 100, et laissant encore passer une quantité appréciable de produit au Tamis 140.
Résidu du *Tamis* 120	3,07	
Résidu du *Tamis* 140	3,25	
Poudre passant au *Tamis* 140	3,30	

Il semble donc probable que d'une façon générale, les tamisations très fines donnent un produit moins résistant à la saccharification et cette deuxième expérience illustre bien les énormes différences de résistance à la diastase des différentes parties même d'une fécule unique.

c) LA TEMPÉRATRE DE DESSICATION. — Ayant enfin entendu incriminer la température de dessication, j'ai fait plusieurs expériences de séchage de fécule à températures croissantes.

J'ai évidemment opéré sur la même fécule lavée à l'eau distillée de la même manière.

Une *première portion*, destinée à servir de témoin fut séchée à l'étuve à 38°, à 7 % d'humidité ;

Une *deuxième portion* fut humectée d'eau distillée et séchée à 30°, à 7 % d'humidité ;

Une *troisième portion* humectée également fut séchée à 30° d'abord, puis portée deux heures à l'étuve à 100° ;

Une *quatrième portion* fut séchée à 37° puis portée à l'étuve à 100° pendant quatre heures.

Enfin une *cinquième portion* fut séchée à l'étuve à 52°, limite de la gélatinisation qui était même un peu commencée, puis portée à l'étuve sèche à 85° pendant 4 heures.

Je fis avec chacune de ces portions un empois à 6 %, puis une digestion pancréatique, le tout dans les conditions Codex. Or, *les résultats furent absolument semblables pour les cinq portions, aux erreurs d'expériences près.*

d) Enfin, il est probable qu'une foule d'autres causes (ancienneté de la fécule, humidité qui oscille entre 10 et 22 %, lumière, alcalinité des récipients, température) interviennent pour modifier le grain d'amidon, agissant parfois en sens

inverse et se neutralisant, mais pouvant d'autres fois ajouter leurs effets et entraîner de profondes modifications.

A ce propos, l'amylase que renferme la fécule semble n'agir que bien lentement, et plusieurs recherches que j'ai faites sur la fécule non lavée pour y rechercher le sucre réducteur ont été négatives.

CONCLUSION. — La conclusion de tout ceci, c'est que, qu'elle qu'en soit la cause, il est certain que le grain d'amidon n'oppose pas toujours la même résistance aux ferments saccharifiants. Chaque grain d'amidon forme une sorte d'individu distinct et complexe qui continue à se modifier, tantôt lentement, tantôt brusquement suivant les circonstances. La question a d'autant plus d'importance que la fécule sert, non seulement au dosage de la pancréatine mais aussi à celui du malt et de la diastase de l'orge germé.

Quel remède proposer à cet état de choses ?

L'idéal, sans nul doute, serait de trouver une matière passive, chimiquement plus simple, mieux définie et plus purifiable, analogue à la monobutyrine pour la lipase. Cette matière, je ne l'ai pas trouvée et, je ne crois pas que la solution soit proche.

J'ai essayé le procédé de purification de la fécule FERNBACH-WOLFF, par macération de cette fécule dans une solution d'acide chlorhydrique à $\frac{1}{1.000}$ pendant une heure et lavages jusqu'à neutralisation complète. Mais, outre que le procédé exige une perte de temps assez longue, à cause des lavages multiples à l'eau distillée (15 à 20 lavages), la purification n'est que partielle ; les phosphates surtout demeurent et les résultats ne diffèrent guère de ceux obtenus par simple lavage à l'eau distillée.

Deux expériences faites sur la fécule H et P m'ont donné :

Fécule H — 3,10 et après purification — 3,10 de sucre (en maltose)
— P - 3,70 — — 3,45 —

Quant au procédé MALFITANO-MOSCHOFF qui opère la déminéralisation à peu près complète de l'amidon par chauffage à l'autoclave à 130° d'un empois à 1 %, décantation de cet empois, congélation dans un moule de nickel, liquéfaction

et récupération des flocons formés (etc.)..., il possède un intérêt théorique très grand, mais est vraiment trop compliqué pour être ordonné un jour au Codex.

Il faut, à mon avis, s'en tenir encore à de simples précautions qui diminuent les chances d'erreur et voici comment je proposerai d'opérer, surtout pour les usines opothérapiques et les drogueries.

Il faudrait acheter un stock de fécule, dans une féculerie employant des eaux très pures, et pour un usage de deux à trois mois au maximum. Le laver ensuite, à l'eau distillée neutre, cinq à six fois au moins suivant quantité. Dessécher ensuite 24 heures à 38°, puis introduire *immédiatement* la fécule dans de petits flacons à bouchons de verre de 60 cc par exemple que l'on remplira exactement et que l'on conservera à l'abri de la lumière. Avant de terminer le dernier flacon, on préparera comme ci-dessus, un deuxième lot, acheté toujours dans la même féculerie et l'on vérifiera sa résistance à la saccharification à l'aide d'une pancréatine exactement titrée avec le lot de fécule précédent. Se servir au besoin d'un témoin pour rendre les conditions exactement semblables.

De cette façon, les erreurs, s'il s'en produit, seront pratiquement négligeables.

Le remède n'est évidemment pas parfait, mais il permettra au moins de ne pas commettre sans s'en douter des erreurs allant jusqu'à 20 % au moins.

Je vais maintenant signaler rapidement quelques autres observations d'importance secondaire que j'ai faites au sujet de la fécule.

α) AU SUJET DE L'EMPOIS. — Le Codex ne donne pas de préparation pour cet empois. Et il me semble que c'est une lacune.

J'ai fait quatre séries d'expériences à cet effet, chaque série avec la même fécule, mais temps de cuisson différent pour l'empois. Je me suis servi dans les quatre séries de la même pancréatine.

Voici les résultats que j'ai obtenus :

[illegible]	CUISSON DE L'EMPOIS	SUCRE RÉDUCTEUR exprimé en maltose
1re série — **Fécule A.** — *Empois à 6 0 0* — *Digestion Codex*		
Fiole I	3 minutes dans l'eau bouillante	[illegible]
— II	1 4 d'heure —	[illegible]
— III	1 2 heure —	[illegible]
2e série. — **Fécule B.** — *mêmes conditions.*		
Fiole I	2 minutes dans l'eau bouillante	[illegible]
— II	1 4 d'heure —	[illegible]
3e série. — **Fécule C.** — *Mêmes conditions*		
Fiole I	3 minutes dans l'eau bouillante	[illegible]
— II	1 2 heure —	[illegible]
4e série. — **Fécule D.** — *mêmes conditions*		
Fiole I	3 minutes dans l'eau bouillante	[illegible]
— II	1 2 heure —	[illegible]

On le voit, la résistance de l'empois à la saccharification s'accroît faiblement certes, mais d'une façon constante, quelle que soit la fécule, en raison directe du temps de cuisson, et il importe pour des expériences précises de procéder d'une façon uniforme. J'ai toujours expérimenté avec des fioles d'Erlenmeyer de 250 c. c. sur des empois produits par une immersion de trois minutes dans l'eau bouillante, des fioles contenant l'eau et la fécule.

Ce qui importe au plus haut point également dans la fabrication de l'empois, c'est d'agiter *violemment* la fiole pendant toute la durée de la cuisson et surtout au moment où commence la gélatinisation (après une minute et demie environ), faute de quoi, il se forme des magmas résistants qui ne sont pas attaqués par la diastase, et faussent les dosages par la diminution même de la quantité d'amidon offerte.

3, Une autre petite remarque que je ferai en passant est la suivante : Le Codex dit : « Préparez 100 grammes d'empois

renfermant six grammes de fécule de pommes de terre... » Il eut mieux valu, à mon sens, pour faciliter les manipulations que le Codex s'exprimât ainsi : « Pesez exactement 6 grammes de fécule... puis, *ajoutez* 100 cc d'eau distillée bien neutre... » Cela dispenserait de tarer la fiole et la précision serait plus grande.

γ) Enfin, le Codex a prescrit à juste titre : fécule desséchée. La fécule, en effet, laissée seulement quelques heures à l'air libre, absorbe une quantité d'eau considérable par rapport à son poids.

Quatre prises d'essai de cinq grammes chacune, prélevées sur quatre lots de fécule conservés au laboratoire en flacons débouchés m'ont donné respectivement, après deux heures d'étuve à 100° une humidité de 0 gr. 428, 0 gr. 527, 0 gr. 382 et 0 gr. 510.

Seulement, la dessication ne pouvant guère être totale, il serait bon de fixer un degré d'humidité — pour rendre dans toute la France, les conditions identiques — soit par exemple 7 % soit 8 %. Grimbert proposait déjà ce chiffre de 7 % en 1913, dans une étude sur le titrage de la diastase de l'orge germé. J'ai obtenu à peu près constamment 7 % à 7.50 % en lavant ma fécule le soir, en l'étalant en couches très minces — 1 cm — sur des plaques de verre, et en la laissant quinze à seize heures à l'étuve à 38°.

II. — LA MATIÈRE ACTIVE

C'est le ferment amylolytique contenu dans la poudre de pancréas, activé, comme je l'ai dit par la Kinase leucocytaire et enrobé dans des substances protéiques. Il agit en milieu neutre ou très faiblement alcalin. Une très faible acidité l'inactive, et il m'est arrivé d'annihiler complètement l'action d'une bonne pancréatine, parce qu'au moment du lavage de ma fécule, il s'était trouvé, à proximité, un récipient d'acide acétique chaud qui émettait des vapeurs dans la salle.

TEMPÉRATURE D'ACTION. — L'action de la diastase commence dès — 10° et se continue jusque vers + 75° en passant par un maximum entre 50° et 60°. A 80°, elle n'agit plus.

Le Codex a donc choisi la température optima d'action.

Cette température est un facteur stable, facile à obtenir avec une étuve bien réglée. Il est très important de ne pas augmenter ou abaisser cette température pendant les digestions sous peine de fausser les résultats.

En effet, l'élévation de la température a pour but de diminuer la proportion de maltose dans le mélange saccharifié. D'après BROWN et HÉRON, le dédoublement de l'amidon par la diastase peut entre 50° et 60° se représenter par l'équation suivante :

$$10\,(C^{12}H^{20}O^{10}) + 8H^2O = 8\,(\underset{\text{Maltose}}{C^{12}H^{22}O^{11}}) + 4\,(\underset{\text{dextrines}}{C^6H^{10}O^5})$$

Pour d'autres températures, M. O'Sullivan donne les rapports :

$$\text{à } 60° = (C^{18}H^{30}O^{15} + H^2O = C^{12}H^{22}O^{11} + C^6H^{10}O^5$$
$$\text{à } 64° - 69° = 2\,(C^{18}H^{30}O^{15}) + H^2O = C^{12}H^{22}O^{11} + 4\,(C^6H^{10}O^5)$$
$$\text{à } 70° - 75° = 4\,(C^{18}H^{30}O^{15}) + H^2O = C^{12}H^{22}O^{11} + 10\,(C^6H^{10}O^5)$$

Pour expliquer cette variabilité extrême de la nature et de la proportion des corps qui résultent de l'action de la diastase sur l'empois, Musculus avait édifié l'hypotèse des « Acrodextrines », dextrines très dégradées et devenues inattaquables par le ferment. La théorie ne peut plus se soutenir depuis les expériences de Maquenne et Roux qui, par certains procédés ont obtenu avec des extraits de malt la transformation totale de l'amidon en sucre (92 à 99, 9% de l'amidon offert).

Ce que l'on peut admettre, et qui confirme notre point de vue, c'est que 1° la proportion des différents corps naissant par l'action de la diastase sur l'amidon, varie suivant la température, et que 2° les dextrines, au fur et à mesure de leur simplification moléculaire deviennent de plus en plus résistantes au ferment.

QUANTITÉ DE FERMENT PRESCRITE DANS L'ESSAI CODEX. — D'autre part, l'attaque de l'amidon doit se faire par 0 gr. 050 de la pancréatine à essayer. Nous avons là aussi un facteur stable. *Mais, il importe absolument de peser très soigneusement les* 0.050 *de pancréatine.*

Deux lois importantes régissent l'action des diastases, lois énoncées par M^elle^ CHAUDUN à propos de la sucrase, dans son

travail « *Recherches physico-chimiques sur l'inversion diastasique du saccharose* ».

1re LOI. — *La diastase est en excès par rapport à la matière passive... La vitesse d'action est alors indépendante de la quantité du catalyseur.*

2e LOI. — *La matière passive est en excès par rapport à la diastase. .. La vitesse d'action croit, quand on augmente la quantité du catalyseur.*

Or, dans le procédé Codex, même quand on a affaire à une excellente pancréatine, nous tombons sous le coup de la deuxième loi : *excès de matière passive*, d'où accroissement de vitesse d'action et par conséquent de sucre formé dans l'espace d'une heure, quand on augmente la dose de pancréatine.

J'ai fait à ce sujet, de nombreuses séries d'expériences, et elles sont toutes probantes.

J'ai exécuté exactement la méthode Codex, en employant des doses croissantes de pancréatine ; je me servais évidemment de la même pàncréatine pour toute la série.

1re Serie. — **Pancréatine A.**

FIOLE	PANCRÉATINE		SUCRE FORMÉ (en maltose)	Amidon saccharifié Proportion 0/0 des 6 gr. d'amidon offerts
I	0 gr. 025		1,40	20,5
II	0,040		2,10	33,1
III	0,050	— Codex —	2,70	42,5
IV	0,100		3,60	56,8
V	0,200		3,73	59,1
VI	0,400		4,30	67,8
VII	0,300		4,30	67,8
VIII	1		4,30	67,8

2e Série. — **Pancréatine B**

FIOLE	PANCRÉATINE		SUCRE FORMÉ (en maltose)	Amidon saccharifié Proportion 0/0 des 6 hr. d'amidon offerts
I	0 gr. 050	— Codex —	2,60	41
II	0,250		3,80	59,8
III	1		4,15	65,5

3e Série. — **Pancréatine A.** (avec autre fécule)

FIOLE	PANCRÉATINE		SUCRE FORMÉ (en maltose)	Amidon saccharifié Proportion 0/0 des 6 gr. d'amidon offerts
I	0 gr. 050	— Codex —	2,55	40,1
II	0,100		3,40	53,6
III	0,200		3,85	60,6
IV	0,300		3,99	62,3
V	0,500		4,15	65 5
VI	1		4,15	65,5

4e Série. — **Pancréatine A** (avec autre fécule)

FIOLE	PANCRÉATINE		SUCRE FORMÉ (en maltose)	Amidon saccharifié Proportion 0/0 des 6 gr. d'amidon offerts
I	0 gr. 05	— Codex —	3	46,9
II	0,100		3,85	60,6
III	0,200		4,22	66,5
IV	0.300		4,30	67,8
V	0.500		4,40	69.3

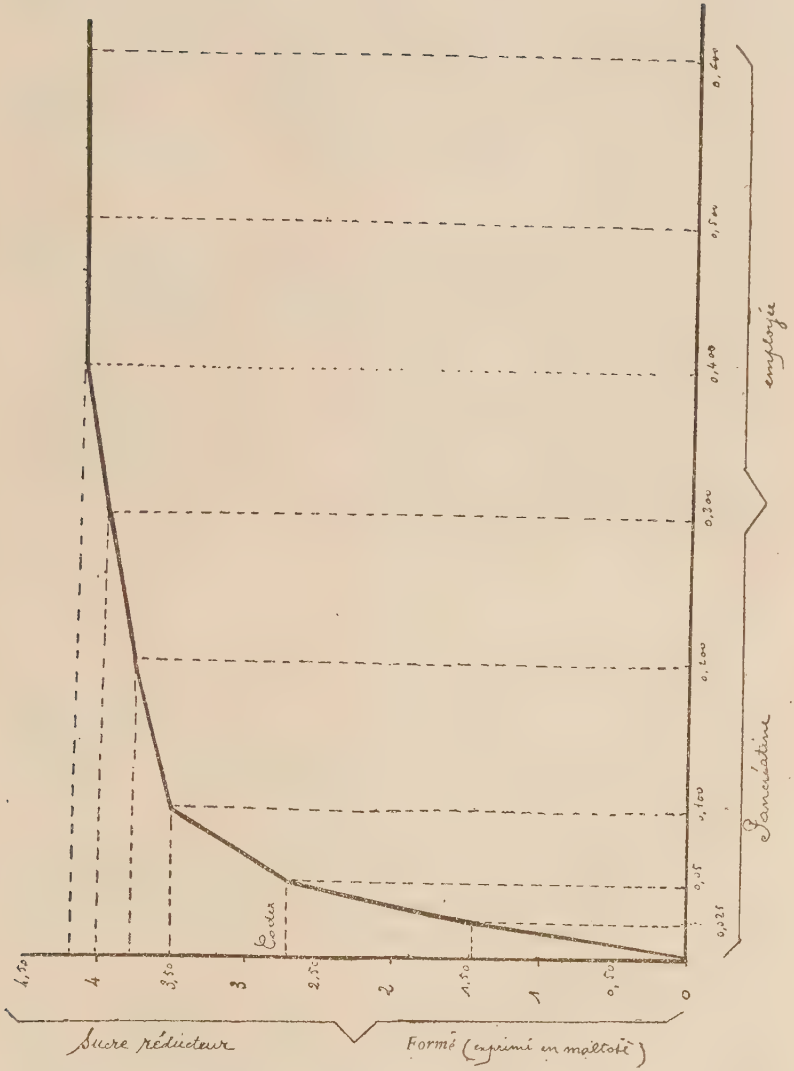
5e Série. — **Pancréatine C**

FIOLE	PANCRÉATINE		SUCRE FORMÉ (en maltose)	Amidon saccharifié Proportion 0/0 des 6 gr. d'amidon offerts
I	0 gr. 050	— Codex —	2.99	46,8
II	0,100		3,80	59,8
III	0,600		4.20	66,1

CONCLUSION. — La conclusion que l'on peut tirer de ces expériences est donc formelle. *Le terme (excès de diastase) est obtenu avec des proportions de pancréatine bien supérieures à la prise d'essai Codex.*

Je ferai également les remarques suivantes :

1° Ce qui frappe immédiatement l'attention dans les chiffres ci-dessus, c'est qu'une quantité double de pancréatine employée, même aux doses faibles, ne donne pas une quantité double de sucre réducteur. L'augmentation, d'abord considérable va ensuite en diminuant très rapidement et devient presque nulle quand on approche de la limite. Le fait est d'ailleurs général pour les diastases, car, écrit GRIMBERT à


Sucre réducteur
Formé (exprimé en maltose)
Coeur
Pancréatine
emploi
0
0,50
1
1,50
2
2,50
3
3,50
4
4,50
0,25
0,50
0,100
0,200
0,300
0,400
0,500
0,600

propos de la diastase de l'orge germé, « ainsi que l'ont observé KJEHLDAL, DUCLAUX, EFFRONT, c'est seulement lorsque la diastase se trouve en présence d'un *très grand excès d'amidon* non transformé, que la quantité de maltose formé est proportionnelle à la quantité de diastase en solution. »

En représentant en *abcisse* les quantités de pancréatine employée et en *ordonnée* les quantités de sucre réducteur obtenu, on obtient, d'après la moyenne des expériences précédentes, la courbe ci-dessus qui représente bien le mode d'attaque diastasique.

2° D'autre part, comme l'a encore fait remarquer GRIMBERT, « le titre 100 appliqué à une diastase répondant aux essais du Codex ne peut s'expliquer qu'en attribuant au mot saccharifié une acception qu'il n'a pas. Sans doute, 0,05 de diastase liquéfient bien 5 grammes de fécule transformée en empois, mais ils n'en saccharifient qu'une partie seulement. »

On devrait indiquer uniquement sur l'étiquette des flacons :

Pancréatine Codex titre 65 — 66 — 67 — c'est-à-dire saccharifie dans les conditions d'essai du Codex 65 — 66 — — 67 % des 6 grammes de fécule offerts.

III. — L'ESSAI CODEX

Quant au titrage du Codex, il n'est (le Codex le dit d'ailleurs) qu'un essai.

Une bonne pancréatine devra, dans les conditions prescrites, saccharifier une quantité d'amidon telle qu'une partie aliquote du digestat puisse réduire à l'ébullition quatre fois son volume de solution enproalcaline titrée.

L'essai, à mon avis, est simple, pratique, et très suffisant pour un pharmacien qui, occupé dans son officine n'a que le temps de vérifier si on ne le trompe pas sur la valeur du produit, et ne pourrait se permettre pour chacune de ses drogues un dosage minutieux.

Mais il peut arriver des cas, où il est nécessaire qu'un expert par exemple ait à vérifier un achat important d'un produit reconnu douteux et puisse, par un titrage précis savoir exactement si, légalement, il peut ou non le déclarer « Codex »

En second lieu, il me semble qu'un chef d'usine de produits opothérapiques, a tout intérêt à doser rigoureusement ses poudres de pancréas afin de vérifier si telle ou telle modifi-

cation nouvelle qu'il a apportée à la préparation l'améliore, et il serait de bonne réclame pour une maison sérieuse d'indiquer le titre exact du produit et non un titre limite, uniforme et qui est parfois sensiblement dépassé.

J'ai titré des pancréatines *Byla* qui donnaient 3 gr. 50 à 3 gr. 60 de sucre réducteur (en maltose) alors qu'à 3 grammes, elles auraient encore été Codex.

IV. — CONCLUSIONS

Voici la rédaction que je proposerais en conclusion des observations que j'ai présentées dans ce chapitre, tant pour rendre l'essai plus précis, que pour le compléter :

Pesez 6 grammes de fécule de pommes de terre, préalablement lavée à l'eau distillée bien neutre et ramenée par dessiccation à 7 % d'humidité. Introduisez-les dans une fiole d'Erlenmeyer de 250 cc et ajoutez 100 cc d'eau distillée vérifiée neutre. Faites un empois, en plongeant la fiole pendant trois minutes dans un grand bain-marie bouillant et en agitant *violemment* pendant toute la durée de la cuisson. Portez la fiole au bain-marie ou à l'étuve à 55° pendant un quart d'heure. Ajoutez 0,05 de pancréatine pure, et maintenez à ce moment la température de 55° pendant une heure, en agitant très *énergiquement* jusqu'à liquéfaction de l'empois, puis de temps en temps. Retirez la fiole de l'étuve, plongez-la deux minutes dans l'eau bouillante pour tuer le ferment et refroidissez rapidement sous courant d'eau.

ESSAI. — Vous devrez obtenir un liquide fluide, filtrant facilement et réduisant à l'ébullition quatre fois son volume de solution cupro-alcaline titrée (R).

TITRAGE. — Employez la méthode de dosage des sucres réducteurs de Gabriel BERTRAND. — 10 cc du digestat devront contenir :

0,20 de sucre réducteur exprimé en Glucose
ou 0,2988 » » » » Maltose

(Pour ce titrage, j'ai toujours porté mon digestat à 500 cc afin d'avoir une solution sucrée de plus faible concentration en sucre réducteur, et me permettant de faire une prise d'essai convenable (10 cc) pour pouvoir me rapporter aux tables de correspondance cuivre-sucre dressées par l'auteur.)

DEUXIÈME PARTIE

LE FERMENT PROTÉOLYTIQUE DANS LA POUDRE DE PANCRÉAS

GÉNÉRALITÉS. — Ce ferment protéolytique est la Trypsine.

Cette trypsine est très répandue dans la nature. Elle existe dans le parenchyme des spongiaires, chez les Echinodermes (KRUCKENBERG) dans l'Hipato-Pancréas des Céphalopodes, chez des crùstacés et des insectes.

On trouve aussi des ferments analogues dans divers produits de sécrétion (urine-lait), et dans les végétaux.

Dans le suc pancréatique, elle dérive comme les autres ferments du pancréas des cellules glandulaires des acini pancréatiques, où elle se forme, non pas à l'état de ferment (HAIDENHAIN) mais de protrypsine, Zymogène auquel il faut pour se transformer en Trypsine l'aide de l'entérokinase, produit des plaques de Peyer, transformation qui peut d'ailleurs être opérée également au moyen de substances chimiques et en particulier de sels solubles de Ca (DELEZENNE) agissant à doses infinitésimales.

Dans la poudre de pancréas, où je l'étudierai, la trypsine se trouve à l'état ferment, activée comme l'amylase par le kinase leucocytaire et protégée par les substances protéiques qui l'accompagnent. Bien sèche, elle est très résistante, comme je l'ai dit, à *la chaleur* (une heure et demie à 160°) et *au temps:* J'ai titré des pancréatines, vieilles au moins de deux ans, dont le pouvoir protéolytique n'avait que peu diminué et qui répondaient encore à l'essai Codex.

En solution même, quoique de résistance bien moindre, elle est encore des ferments du pancréas, celui dont l'activité baisse le plus lentement.

ACTION DE LA TRYPSINE. — L'action de la Trypsine est analogue à celle de la pepsine, mais avec scission beaucoup plus profonde de la molécule protéïque. — « Dans le travail de la pepsine » écrit EFFRONT, nous voyons « apparaître des albumoses, des peptones ainsi que des corps abiurétiques complexes non précipitables par l'acide phosphorique et susceptibles même de cristalliser. Tous ces produits, à poids moléculaires très élevés, proviennent de l'Hydrolyse partielle de la matière albuminoïde, ils présentent encore les caractères, plus ou moins prononcés, de la substance de laquelle ils dérivent. — Avec la Trypsine, on aboutit à un travail beaucoup plus profond. Sans doute, il se forme encore au début de l'action, des albumoses primaires, mais ceux-ci disparaissent bientôt en donnant des dentéro-albumoses et des peptones. Très rapidement, on voit apparaître aussi des corps caractéristiques du travail trypsique : la *tyrosine*, le *tryptophane* et la *leucine*. Si l'on prolonge suffisamment la digestion, on trouve alors dans le liquide un grand nombre d'acides mono et diaminés. Les produits finaux de la réaction sont donc constitués par des dentéroalbumoses et des peptones, tous deux biurétiques et précipitables par l'acide phosphotungstique, ainsi que différents acides animés non précipitables par ce réactif.

Les multiples acides animés qu'on rencontre dans les produits d'hydrolyse trypsique profonde sont de constitution assez différentes. Les uns ne possèdent qu'une fonction acide et une fonction amine ; les autres sont diacides et monoamines, ou monoacides et diamines. Certains contiennent en outre une fonction alcool ; d'autres sont des produits sulfurés. Enfin ces corps sont tantôt à chaîne linéaire et tantôt à chaîne fermée. Toutefois, on peut dire que tous répondent à la formule générale : $R - CH(NH^2) - CooH$: qui montre qu'il y a au moins un groupement NH^2 fixé au C immédiatement voisin du Carboxyle ; R pouvant être un radical acyclique, aromatique ou hétérocyclique ».

Je me suis étendu sur cette question du clivage de la molécule albuminoïdique par la trypsine pour montrer

combien il devenait compliqué de trouver une méthode de recherche convenable de la mesure d'activité globale d'un ferment donnant une pareille série de produits de dégradation : produits variés et divers non seulement au début de l'attaque du ferment, mais même à la fin de la réaction.

En effet, outre les résidus des divers termes de passage, qui analogues aux acrodextrines deviennent très probablement à peine attaquables par le ferment et provoquent cette opalescence que l'on constate toujours à l'épreuve azotique du digestat, on trouve jusqu'à vingt produits finaux, plusieurs de constitution voisine, mais d'autres *très différents*, et surtout réagissant *différemment* aux réactifs, suivant qu'ils se trouvent dans telle ou telle combinaison moléculaire.

« On sait » dit Effront « que les sels de guanidine, même *après addition de formol*, se comportent comme des combinaisons tout à fait *neutres*, et que d'autre part, l'arginine, bien qu'ayant deux fonctions amine, joue néanmoins vis-à-vis de ce réactif, le rôle d'une base monoacide seulement. Tant que ce dernier corps n'est lié aux autres particules de la molécule albuminoïde que par son C o o H ou le N H ^{2} voisin, le groupe guanidine restant lié dans la molécule elle-même, la passivité de ce groupe vis-à-vis du formol ne gêne aucunement le dosage Mais si le groupe guanidine se trouve lié à un groupe C o o H de la chaîne protéique, la rupture d'une pareille liaison échappera à la mesure par la titration au formol »

EXAMEN DU PROCÉDÉ CODEX D'ESSAI DU POUVOIR PROTÉOLYTIQUE

Le Codex 1908 indique l'essai suivant de la mesure d'activité du ferment trypsique.

« Pour s'assurer de sa puissance d'action sur les matières protéiques prenez :

Pancréatine	vingt centigrammes.
Eau distillée	soixante grammes.
Fibrine desséchée	deux grammes cinquante centigr.

Dans un bain-marie ou une étuve chauffée à + 50°, placez un flacon contenant la fibrine desséchée et l'eau ; laissez digérer pendant une demi heure, ajoutez la pancréatine et faites digérer pendant six heures en ayant soin, au début, d'agiter assez fréquemment le mélange jusqu'à dissolution complète de la fibrine, et ensuite toutes les heures environ. Filtrez.

10 centimètres cubes de la liqueur ainsi obtenue ne doivent pas se troubler à la température ordinaire, par l'addition de vingt gouttes d'acide azotique officinal.

Dans cet essai, on peut remplacer les 2 gr. 50 de fibrine desséchée par 10 grammes de fibrine essorée ; il faut alors réduire à 52 grammes 50 la proportion d'eau distillée. »

Le supplément de 1920 ne modifie en rien le texte ci-dessus.

Cette prescription du Codex appelle un certain nombre de remarques et de précisions.

J'étudierai d'abord, comme pour l'amylase, *la matière passive — la fibrine* — puis *l'essai lui-même* et montrerai dans quel sens il serait bon de le préciser et de le compléter.

I. — LA MATIÈRE PASSIVE

On sait que la *fibrine* est une globuline formant la trame du caillot sanguin et obtenue industriellement par battage du sang frais.

Elle fut proposée à l'état « fibrine fraîche humide, mais non mouillée » *dès 1865* par la Commission de la société de pharmacie et acceptée pour le dosage de la pepsine.

Le *Codex* 1884 spécifia « fibrine de porc lavée et fraîchement essorée ».

En 1895, le codex adopta cette fibrine fraîche pour l'essai de la protéolyse pancréatique.

Quant *au Codex 1908* : il admet indifféremment *la fibrine desséchée à l'étuve à 40°* ou la *fibrine essorée.*

Je noterai d'abord, que dans aucune usine, que je sache, on ne dessèche plus la fibrine à 40°, mais au maximum à 30° et dans des *appareils à vide profond.*

Peut-on, d'autre part employer indifféremment l'une ou l'autre des deux fibrines. Il ne me semble pas.

La fibrine fraîche et essorée présente de graves inconvénients et est d'ailleurs fort peu utilisée aujourd'hui. En effet :

1° *Il est très difficile de s'en procurer.*

2° *Elle s'autolyse très vite et profondément* et cela se conçoit puisque les diastases qu'elle renferme — traces de trypsine pancréatique ou diastases de désagrégation des leucocytes — et les ferments figurés, sont dans un milieu hydraté essentiel-

lement favorable à leur développement pour peu que la température soit élevée au-dessus de 0°.

3° *La pesée de* 10 *grammes de fibrine essorée ne signifie rien* parce que la teneur en eau peut varier de 50 % suivant l'essorage qu'il est impossible de régler.

Sans doute, des expérimentateurs habiles et spécialisés pourront arriver à faire des essais très sérieux de pancréatine avec une telle matière passive ; mais, pour le pharmacien, le droguiste, qui n'exécutent que rarement ces épreuves et ont besoin d'une méthode, simple, pratique et objective, le procédé à la fibrine *fraîche* semble nettement devoir être écarté.

Reste donc comme matière passive la fibrine desséchée à faible température et dans le vide, fibrine *de porc* évidemment, qui ne peut être employée indifféremment avec la fibrine de cheval, parce que, dit CHOAY « l'état de dégradation est beaucoup plus marqué dans le cas des digestions de fibrine de cheval, que dans celui des digestions de fibrine de porc ».

La fibrine de porc se présente, dans le commerce, sous forme de poudre d'apparence fort variable suivant les maisons de production, tantôt sous l'aspect d'une poudre très ténue et très uniforme, tantôt au contraire, mélangée de particules assez grosses, noyées au milieu d'autres très fines. Sa couleur varie également du *blanc lait desséché au gris rose* — aspect de sable fin — teinte provenant certainement de globules rouges restés dans sa masse. Dans le premier cas, la touche azotique donne une opalescence blanchâtre et dans le deuxième cas, une opalescence virant franchement au verdâtre, avec évidemment toute la gamme intermédiaire.

Cette fibrine constitue-t-elle une matière passive de premier choix ?

Deux causes importantes me semblaient, à priori, devoir modifier sa faculté de désagrégation et amener des différences dans la protéolyse, analogues à celles que j'ai montrées dans la saccharification de la fécule ; c'était :

A) *L'autolyse de la fibrine.*

B) *Son tamisage après pulvérisation.*

A) *LA QUESTION DE L'AUTOLYSE.* — Dans sa thèse de 1911, CHOAY signalait « les profondes modifications autolytiques » que les diastases et les ferments produisaient dans la

fibrine pendant son séchage, modifications ayant pour but d'engendrer des produits solubles conséquences d'un commencement de digestion.

RENAUD a tenté d'empêcher cette autolyse en ébouillantant la fibrine avant sa dessication, *une minute*, dans l'eau à 100°. Les ferments, en effet, étaient anéantis, mais malheureusement la fibrine perdait en grande partie la propriété d'être digérée par la diastase.

J'ai repris à mon tour la question et j'ai pu arriver à quelques résultats.

Voici comment j'ai abordé le problème :

J'ai préparé de façon différente trois portions du même lot de fibrine :

1° *portion.* — Destinée à servir de témoin ; était fabriquée de la façon ordinaire, c'est-à-dire, par battage du sang frais, essorage, séchage à l'étuve à vide à + 20 à 25° pulvérisation et tamisage au tamis 80.

2° *portion.* — La fibrine aussitôt préparée et lavée était essorée à fond et *mise à macérer* vingt-quatre heures *dans l'alcool* à 95°, desséchée dans le vide à + 20 à 25°, pulvérisée et passée au tamis 80. (Le séchage dans ce cas était très rapide).

3° *portion.* — La fibrine aussitôt préparée et lavée était essorée légèrement, étalée sur une toile ou un grand tamis et *plongée dans une cuve remplie d'eau à* + 80°, exactement pendant *deux minutes*, desséchée ensuite dans le vide à 20 à 25°, pluvérisée et passée au tamis 80.

En possesion de ces trois lots de fibrine, j'ai examiné :

α *Si, après le séchage*, il existait dans chacune d'elles des produits d'antolyse. Pour ce, j'ai fait les expérience suivantes :

J'ai prélevé trois grammes de chaque fibrine, j'y ai ajouté 30^{cc} d'eau très froide (+3 à 4°) et bidistillée. Après homogénéisation soigneuse et de cinq minutes au moins, j'ai filtré le liquide, prélevé 10^{cc} du filtrat et fait des extraits secs.

Voici les résultats, rapportés à la prise d'essai de trois grammes :

1re expérience : 1) avec la fibrine ordinaire..... = 0 gr 054
2) avec la fibrine macérée dans l'alcool = 0 gr. 021
3) avec la fibrine traitée par l'eau à + 80° pendant deux minutes..... = 0 gr. 045

2e *expérience* : 1) avec la fibrine ordinaire..... = 0 gr. 060
2) avec la fibrine macérée dans l'alcool = 0 gr. 018
3) avec la fibrine traitée par l'eau à + 80° pendant deux minutes..... = 0 gr. 051

La conclusion qui se dégage de ces expériences, c'est que, au moins avec dessication par l'appareil à vide à + 20 à 25° l'autolyse pendant le séchage est vraiment insignifiante, d'une teneur maxima d'environ 2 %. Dans les trois cas, les extraits secs sont tellement minimes qu'ils peuvent provenir de molécules protéïques très tenues que le filtre n'a pas arrêtées. Probablement dans le cas de la fibrine traitée par l'alcool, la matière était devenue plus compacte et la filtration s'en est trouvée plus parfaite.

Peut-être, avec séchage de la fibrine à 40°, l'autolyse serait-elle plus consdérable ? L'expérience en tous cas serait à faire, mais je n'ai pas pu me procurer de fibrine desséchée à cette température.

β J'ai examiné d'autre part, si les *diastases* qui, pratiquement n'avaient pas agi pendant le séchage, *manifestaient leur action après contact prolongé de l'eau à 50°* (température de l'essai Codex) avec la fibrine.

J'ai opéré pour cela une digestion à vide, c'est-à-dire que j'ai mis une prise d'essai de 2 gr. 50 de chacune des fibrines dans trois récipients avec 60cc d'eau, que j'ai portés à 50° pendant 6 heures et demie suivant les prescriptions du Codex, mais sans pancréatine.

Dans une première expérience, j'ai ajouté X gouttes de toluène dans chaque récipient, au moment de la mise à l'étuve afin de rendre le milieu défavorable aux ferments figurés qui auraient pu ajouter leur action à celle des diastases.

Voici les résultats que j'ai obtenus :

1° *Méthode à l'aminoformol de Sœrensen :* (résultats en soude $\frac{N}{10}$) :

avec fibrine ordinaire = acides libres : 0 cc 2 — acidité totale 1,1 — aam. 0 cc. 9
— à l'alcool = — : traces — — 0,4 — — 0 cc. 42
— à l'eau à + 80° = — : Néant — — 0,12 — — 0 cc. 1

2° *Extraits secs* : (Prise d'essai ramenée aux 2 gr. 50).
avec fibrine ordinaire..... = 0 gr. 204
— fibrine à l'alcool..... = 0 gr. 204
— fibrine à l'eau à + 80°..... = 0 gr. 080

3° *Touche azotique* : Opalescente dans les deux premiers cas.
Très claire dans le troisième.

Dans une deuxième expérience, j'ai supprimé le Toluène qui pouvait non seulement annihiler les ferments figurés, mais affaiblir les diastases.

Résultats :

1° *Méthode à l'aminoformol :* (résultats en soude $\frac{N}{10}$) :

avec fibrine ordinaire = ac. libres : 0 cc. 3 — acid. totale 1,4 — aam. 1 cc. 1
— fibrine à l'alcool = — : Traces — — 0,5 — — 0 cc. 5
— fibrine à l'eau à + 80° = — : Néant — — 0,12 — — 0 cc. 12

2° *Extraits secs :* (Prise d'essai ramenée à 2 gr. 50).
avec fibrine ordinaire..... = 0 gr. 222
— fibrine à l'alcool..... = 0 gr. 222
— fibrine à l'eau à + 80°..... = 0 gr. 105

3° *Touche azotique :* Opalescente dans les deux premiers cas.
Très claire dans le troisième.

Les résultats de cette deuxième série d'expériences sont donc bien semblables à ceux de la première. Le toluène, soit dit en passant, à la dose employée n'a donc pas d'action nuisible sur la diastase, et la légère augmentation d'extrait sec, la même très exactement dans les trois cas, vient sans nul doute de l'action de quelques ferments figurés.

Conclusion : Dans la fibrine traitée par l'eau à + 80° pendant deux minutes, il ne se forme pas pratiquement de produits solubles pendant une digestion de 6 heures et demie. Les diastases et ferments, préexistants dans la fibrine sont donc bien tués.

Dans la fibrine à l'alcool, les diastases ne semblent pas mortes, mais tout de même atténuées dans une notable proportion. Il se forme encore des produits solubles, albumoses, peptones, comme le témoigne l'extrait sec, mais la désagrégation va moins loin et la quantité d'acides animés, très faible d'ailleurs, diminue de moitié.

γ Enfin, il s'agissait de savoir si ces fibrines débarrassées des ferments, mais traitées pour cela par des moyens violents n'avaient pas subi quelque modification profonde de leurs cellules qui les rendit inattaquables ou différemment attaquables par le ferment pancréatique.

J'ai alors procédé à des digestions pancréatiques avec les trois fibrines, suivant l'ordonnance exacte du Codex, puis sur

les filtrats, j'ai exécuté les essais suivants : (J'ai évidemment employé constamment la même pancréatine).

1re Série d'expériences :

Essais à la touche azotique :

Avec fibrine ordinaire = légère opalescence.
— fibrine à l'alcool = —
— fibrine à l'eau à + 80° = limpidité presque parfaite.

Dosage à l'aminoformol de Sœrensen (résultats en soude $\frac{N}{10}$) :

Avec fibrine ordinaire = acides aminés neutralisés par = 16 cc. 3
— fibrine à l'alcool = — — = 14 cc. 8
— fibrine à l'eau à + 80° = — — = 14 cc. 3

Extraits secs :

Avec fibrine ordinaire..... = 2 gr. 400
— fibrine à l'alcool..... = 2 gr. 388
— fibrine à l'eau à + 80°..... = 2 gr. 262

2e série d'expériences : Même procédé exactement :

Essais à la touche azotique :

Avec fibrine ordinaire = légère opalescence.
— fibrine à l'alcool = —
— fibrine à l'eau à + 88° = limpidité presque parfaite.

Dosage à l'aminoformol de Sœrensen (résultats en soude $\frac{N}{10}$) :

Avec fibrine ordinaire = ac. aminés neutralisés par = 16,3
— fibrine à l'alcool = — — = 15
— fibrine à l'eau à + 80 = — — = 14,5

Extraits secs :

Avec fibrine ordinaire..... = 2 gr. 400
— fibrine à l'alcool..... = 2 gr. 392
— fibrine à l'eau à + 80°..... = 2 gr. 280

Conclusion : Les fibrines de porc traitées, soit par l'alcool à 95°, soit surtout par immersion de deux minutes dans l'eau à 80° ne sont donc nullement modifiées au point de vue de leur attaque par la trypsine.

Les différences trouvées, tant dans les extraits secs que dans les titrages d'acides animés correspondent presque parfaitement aux différences d'autolyse observées plus haut dans les digestions à vide des trois fibrines.

B) LE TAMISAGE DE LA FIBRINE. — J'ai déjà dit plus haut que les fibrines, suivant qu'on se les procurait dans telle ou telle maison de fabrication présentaient des caractères phy-

siques tout différents, au point de vue couleur et *surtout finesse* de la poudre.

Au sujet du tamisage, en effet, le Codex ne dit rien et, évidemment, chaque fabricant était libre d'agir à sa guise.

Cette question me sembla avoir une grande importance sur la protéolyse.

Pour m'en rendre compte, je fis choix de deux fibrines I et II très différentes d'aspect.

Marche des expériences :

Je tamisai d'abord au tamis 80. Je recueillis dans un flacon le *résidu* ne passant pas à travers les mailles. Ce qui passa fut ensuite tamisé au tamis suivant, 100, par exemple. J'en recueillis également le résidu et ce qui passa fut jeté au tamis 120. (etc.) J'eus donc ainsi une série de résidus de tamis poudres de plus en plus fines et sur lesquelles je fis plusieurs séries d'expériences de digestion *avec la même pancréatine*.

Résultats :

1re Série.

Six heures de digestion aux conditions codex.

Fibrine I.

Résidu du tamis 80 :
- Touche azotique = opalescence très légère.
- Titr. à l'aminoformol = ac. aminés neutralisés par (soude $\frac{N}{10}$) 12 cc. 5
- Extrait sec = 2 gr. 47.

Résidu du tamis 120 :
- Touche azotique = opalescence très légère.
- Titr. à l'aminoformol = ac aminés neutralisés par (soude $\frac{N}{10}$) 12 cc. 3
- Extrait sec = 2 gr. 41.

Fibrine II.

Résidu du tamis 80 :
- Touche azotique = opalescence très légère.
- Titr. à l'aminoformol = ac. aminés neutralisés par (soude $\frac{N}{10}$) 13 cc. 3
- Extrait sec = 2 gr. 50.

Résidu du tamis 120 :
- Touche azotique = opalescence très légère.
- Titr. à l'aminoformol = ac. aminés neutralisés par (soude $\frac{N}{10}$) 13 cc. 1
- Extrait sec = 2 gr. 44.

2me Série.

Quatre heures et demie de digestion aux conditions codex.

Fibrine I.

Résidu du tamis 80
- Touche azotique = opalescence.
- Titr. à l'aminoformol = ac. aminés neutralisés par 11 cc. 3 (soude $\frac{N}{10}$).
- Extrait sec = 2 gr. 37.

Résidu du tamis 120
- Touche azotique = opalescence.
- Titr. à l'aminoformol = ac. aminés neutralisés par 10 cc. 9 (soude $\frac{N}{10}$).
- Extrait sec = 2 gr. 32.

Fibrine II.

Résidu du tamis 80
- Touche azotique = opalescence.
- Titr. à l'aminoformol = ac. aminés neutralisés par 10 cc. 9 (soude $\frac{N}{10}$).
- Extrait sec = 2 gr. 50.

Résidu du tamis 100
- Touche azotique = opalescence.
- Titr. à l'aminoformol = ac. aminés neutralisés par 12 cc. (soude $\frac{N}{10}$).
- Extrait sec = 2 gr. 49.

Résidu du tamis 120
- Touche azotique = opalescence.
- Titr. à l'aminoformol = ac. aminés neutralisés par 11 cc. 7 (soude $\frac{N}{10}$).
- Extrait sec = 2 gr. 39.

Résidu du tamis 140
- Touche azotique = opalescence.
- Titr. à l'aminoformol = ac. aminés neutralisés par 11 cc. 7 (soude $\frac{N}{10}$).
- Extrait sec = 2 gr. 35.

3me Série.

Une heure de digestion aux conditions codex.

Fibrine I.

Résidu du tamis 80
- Touche azotique = précipité abondant.
- Titr. à l'aminoformol = ac. aminés neutralisés par 5 cc. 2 (soude $\frac{N}{10}$).

Résidu du tamis 140 { Touche azotique = précipité abondant. / Titr. à l'aminoformol = ac. aminés neutralisés par 7 cc. 1 (soude $\frac{N}{10}$).

Fibrine II.

Résidu du tamis 80 { Touche azotique = précipité abondant. / Titr à l'aminoformol = ac. aminés neutralisés par 5 cc. 8. / Extrait sec = 1 gr. 758.

Résidu du tamis 140 { Touche azotique = précipité abondant. / Titr. à l'aminoformol = ac. aminés neutralisés par 7 cc. 9 (soude $\frac{N}{10}$). / Extrait sec = 2 gr. 25.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS. — Ce qui ressort nettement de ces expériences c'est que :

1°) Pour les six heures de digestion aux Conditions Codex, l'augmentation de la finesse de la poudre de fibrine n'a aucune influence sur l'état de dégradation finale, et, fait extrêmement curieux, les résultats seraient même contraires à ce à quoi l'on devait s'attendre, puisque les extraits secs et les dosages d'acides aminés accusent une petite diminution des produits transformés très légère à vrai dire, et insuffisante pour en tirer une loi, *mais constante,* à mesure qu'augmente la finesse de la poudre. — Il semblerait, que, telle un coureur forcé, la pancréatine usât son pouvoir en agissant trop rapidement.

2°) Pour quatre heures et demie de digestion aux conditions Codex, la ténuité de la poudre n'augmente pas non plus la dégradation de la molécule et là encore, le même résultat bizarre se reproduit d'une petite diminution de produits solubles et d'acides aminés, à mesure qu'augmente le degré de pulvérisation.

3°) Pour une heure de digestion, au contraire, l'état de division de la poudre prend une importance considérable et suit cette loi générale qui dit que l'attaque par une diastase — un acide — un solvant quelconque, est d'autant plus rapide que la matière attaquée présente une surface plus grande par rapport à la masse.

Dans la digestion codex de la fibrine par la pancréatine, les six heures de digestion sont donc plus que suffisantes pour terminer la liquéfaction de la fibrine même résidu du tamis 80 et rétablir l'équilibre entre les produits solubles, et par

conséquent le Codex n'avait pas à préciser le degré de tamisation d'une fibrine.

CONCLUSION. — 1° Le tamisage, pour l'essai Codex, n'a aucune influence pratique, à condition évidemment de ne pas dépasser un minimum (résidu tamis 80) donnant d'ailleurs une poudre très grossière.

2° L'autolyse est facile à supprimer, puisqu'il m'a suffit de plonger une fibrine deux minutes dans l'eau à 80° pour annihiler virtuellement ce pouvoir autolytique. Le procédé est simple et économique, n'exigeant ni perte de temps, ni matériel particulier. Il est supérieur à la dessication aux environs de 0° qui empêche bien le travail des diastases pendant le séchage, mais ne les tue pas. Cette autolyse d'ailleurs, pour *la fibrine de porc* n'est jamais bien considérable, et n'a pas atteint dans les produits que j'ai examinés plus de 8.70 % du poids de fibrine offert même après digestion de six heures et demie. La question prend seulement une grande importance à propos des digestions pepsiques. Les produits de dégradation sont en abondance bien moins considérable et par conséquent, la moindre quantité de produits solubles se produisant par une cause étrangère à la diastase, fausse les résultats de façon très appréciable.

3° Ce que j'ai observé également, ce sont, avec même pancréatine, les différences dans la puissance de la protéolyse que marque chaque changement de fibrine. Les expériences faites ci-dessus avec fibrines I et II non stabilisées, sont bien démonstratives, à cet égard : les différences sont constantes à tout moment de la digestion $(1^{H} - 4^{H} \frac{1}{2} - 6^{H})$.

La question est exactement parallèle à celle de la fécule. La fibrine est un produit trop complexe, trop variable, pour constituer une matière passive parfaite. J'ai enrayé une cause d'erreur, l'autolyse, mais d'autres facteurs doivent certainement agir — âge de l'animal, globules sanguins restés dans la masse de fibrine — pour modifier la résistance à la protéolyse.

II. — L'ESSAI

Quant à l'essai lui-même ordonné par le Codex, il est comme l'essai de la diastase amylolytique, une limite seulement et non un dosage.

Son imprécision est bien grande. Il est peu sensible : j'ai en ce moment sous les yeux deux digestats pancréatiques traités par l'acide azotique officinal. Tous deux sont *d'opalescence* absolument *égale* et cependant l'un donne au titrage à l'aminoformol 12 ^{c} en soude $\frac{N}{10}$ et l'autre seulement 8^{cc}.

D'autre part, jamais on n'obtient à la touche azotique un liquide absolument clair. Toujours, se produit une certaine opalescence blanchâtre ou verdâtre et, même avec un œil exercé, il est bien malaisé de faire une gamme croissante ou décroissante de ces opalescences.

A ce sujet, je dirai que la fibrine, stabilisée comme je l'ai indiqué plus haut, donne, avec de bonnes pancréatines, des touches azotiques très claires et, d'une limpidité presque parfaite avec d'excellents produits.

Complément du procédé Guéguen. — Méthode à l'aminoformol de Sœrensen. — En tous cas, cet essai demanderait à être complété par un dosage véritable à l'usage surtout des fabricants ou pour le cas d'expertise de produits douteux.

Et pour cela, il me semble que la méthode de dosage des acides aminés, de Sœrensen, dite méthode à l'aminoformol, serait toute indiquée.

Elle est simple, pratique, très rapide. Moins précise que le dosage des sucres par le procédé G. Bertrand, elle l'est encore suffisamment pour opérer, même avec une médiocre expérience, sans erreur notable. Le virage de l'indicateur, point délicat de l'expérience, s'aperçoit cependant bien, si l'on a soin de se mettre en pleine lumière, de ne pas placer devant le ballon ou le vase contenant le liquide à doser, d'objet jaune, rose ou rouge, et d'opérer toujours avec la même quantité de phénolphtaléine et dans le même récipient.

Voici en quelques mots le principe de la méthode, exposée en détail par Effront dans son travail sur « Les Catalyseurs Biochimiques dans la vie et l'Industrie. »

« Si l'on ajoute du formol dans un liquide contenant un acide animé CH — NH^2 par exemple, le formol réagit sur le

$$\begin{matrix} COOH \\ \text{radical } NH^2 \end{matrix}$$

et opère ce que l'on appelle le bloquage de la

basicité. La molécule prend alors un caractère acide et l'on obtient :

$$\begin{array}{l} CH-NH^2 \\ | \\ COOH \end{array} + CH^2O = H^2O + \begin{array}{l} CH-N=CH^2 \\ | \\ COOH \end{array}$$

Cette acidité est mesurée aors par NaoH.

TECHNIQUE. — J'ai employé exactement celle qui a été indiquée par RENAUD dans sa thèse sur l' «Étude pharmacologique de la pepsine. »

« On filtre le digestat du procédé Codex. On en prélève 10cc, on ajoute 10cc d'eau, puis dix gouttes de solution alcoolique de phénolphtaléine, enfin de la soude $\frac{N}{10}$ à neutralisation.

On note le nombre de centimètres cubes de soude versée.

On ajoute alors 25cc de formol commercial, exactement neutralisé. La coloration rose disparait par suite de la libération des C o o H. On verse ensuite de la soude jusqu'à réapparition de la teinte rose ; on note le volume de soude versée.

Soit « Ncc ce volume. » représentatif de l'acidité mise en liberté par le formol.

TROISIÈME PARTIE

LA LIPASE DANS LA POUDRE DE PANCRÉAS

Le ferment lipasique existe chez les végétaux et les animaux

LIPASES VÉGÉTALES. — On les trouve dans les graines de lin, pavot, colza, arachides, amandes douces et amandes amères (etc.)... Dès 1855, PELOUZE publiait un mémoire sur l'hydrolyse des huiles contenues dans les graines, par un principe, dont il ignorait d'ailleurs la nature.

En 1871, MÜNTZ établit ce fait que la première phase de l'utilisation de corps gras accumulés dans les graines a lieu concurremment avec l'hydrolyse de ces corps gras, et que l'acidité produite est due aux acides gras libérés.

Mais les études sur les lipases végétales portèrent surtout sur les graines de ricin. MAILLOT, 1880, GREEN, CONNSTEIN SIEGMUND, WARTENBERG puis NICLOUX en 1905-1906 s'attaquèrent à la question et démontrèrent que la lipase du ricin est extrêmement énergique. On chercha alors à l'utiliser industriellement et à la faire entrer dans la thérapeutique pour suppléer à une sécrétion déficitaire du pancréas humain, mais on dut abandonner cette tentative : la lipase du ricin ne travaillant qu'en milieu acide.

LIPASES ANIMALES. — Les lipases animales sont également très nombreuses : elle existent dans le sérum sanguin, l'urine, etc... mais surtout dans le pancréas.

La lipase pancréatique est la seule qui soit fabriquée jusqu'ici industriellement pour les besoins thérapeutiques.

PROPRIÉTÉS DE LA LIPASE PANCRÉATIQUE. — Elle possède les mêmes propriétés que les lipases végétales et les autres lipases animales, c'est-à-dire qu'elle a le pouvoir *d'émulsionner* et de *saponifier* les corps gras et un certain nombre d'éthers — éther tribenzoïque de la glycérine, succinate de phényle, salol — mais avec action, évidemment, en milieu neutre ou légèrement alcalin.

Sa propriété *émulsionnante* est facile à mettre en évidence.

α « *In vivo* ». Dès 1849, Claude Bernard l'avait observée chez le lapin.

β « *In vitro* ». Il suffit d'agiter dans un tube à essai, un peu d'huile neutre avec de la pancréatine. On obtient presque immédiatement un liquide laiteux constitué par des milliers de petites gouttelettes graisseuses microscopiques.

La propriété *saponifiante* est non moins aisée à constater.

En 1849 également, Claude Bernard, démontrait cette propriété saponifiante de la lipase, en constatant que les corps gras additionnés de suc pancréatique devenaient rapidement acides.

Si d'autre part, dans un tube à essai, on ajoute à l'huile neutre un indicateur (papier de Tournesol bleu par exemple) on peut voir, quelques instants après l'addition de pancréatine, le papier virer au rouge. Les corps gras se sont dédoublés avec fixation d'eau en acides gras et glycérine.

MÉCANISME DE LA SAPONIFICATION. — Sur le mécanisme de cette saponification, on a beaucoup discuté et, je ne crois pas que l'on soit encore d'accord.

Deux hypothèses différentes ont été admises :

Ou bien, le dédoublement des glycérides en glycérine et acides gras est une réaction quadrimoléculaire ; ou bien, ce dédoublement s'opère en trois phases consécutives.

LEWKOWITSCH, partisan de la deuxième hypothèse a essayé de trancher la question en cherchant à isoler dans une saponification graduelle, les différents termes de passage. Il n'y put parvenir, car, ainsi qu'il le fit remarquer, « on ne peut s'attendre à voir les trois phases se succéder consécutivement d'une manière absolument nette. On doit plutôt s'attendre à voir les trois phases..... prendre place simultanément et concurremment. »

Il essaya alors de résoudre le problème par l'examen du

chiffre d'acétylation qui, dans l'hypothèse, ne devait pas être nul, la saponification n'étant pas totale. Ses expériences semblèrent confirmer ses hypothèses, jusqu'à ce que BALBIANO s'élevât contre ses conclusions en faisant lui aussi des expériences sur du tribenzoate de glycérine, semblant démontrer la thèse opposée.

Quoiqu'il en soit, la saponification, qu'elle s'opère en trois phases successives ou une seule est un fait certain et c'est là ce qui nous importe.

ACTION DE LA LIPASE. — L'action de la lipase pancréatique s'exerce sur tous les glycérides et les éthers déjà cités, mais non avec la même intensité sur chacun d'eux.

MOREL et TERROINE ont montré qu'elle diminue à partir des termes les plus simples, jusqu'à devenir très faible pour les glycérides de grande complication moléculaire.

La lipase pancréatique n'est d'ailleurs jamais très active seule, et elle produirait d'autant moins de travail que les graisses ingérées par l'homme sont en grande partie de haut poids moléculaire.

Mais la nature a pallié à cet inconvénient en surexcitant l'action de cette diastase par la présence des sels biliaires.

Et c'est pourquoi, lorsque l'on administre à un malade de la pancréatine pour non digestion de graisses, ce qui importe au plus haut point, c'est de s'assurer avant tout du fonctionnement normal de son foie, ou en cas de doute de joindre toujours à cette pancréatine une certaine dose de sels biliaires.

MESURE DE L'ACTIVITÉ LIPASIQUE

DE LA POUDRE DE PANCRÉAS

Que dit le Codex de la lipase pancréatique ? Rien ou à peu près. Le Codex français se contente d'indiquer que la pancréatine contient un ferment qui « *émulsionne les corps gras* ».

Il semble vraiment que ce soit une lacune et, ce qui prouve cette assertion, c'est que fréquemment, dans les usines opothérapiques, les pharmaciens exigent des pancréatines à pouvoir lipasique contrôlé. J'ai vu le fait se produire trois fois pendant les quelques jours que j'ai passé aux usines Byla. Cela se conçoit très bien d'ailleurs, parce que la non digestion des

graisses et leur présence dans les selles, constitue à peu près (les fonctions biliaires étant normales), le seul signe clinique certain d'une maladie du pancréas.

Aussi, je me suis attaché uniquement dans les pages qui vont suivre, à chercher une méthode de dosage, analogue à celle des deux autres ferments du pancréas et qui put compléter la lacune du Codex.

TITRAGE A L'HUILE. — J'ai tout d'abord écarté les essais dans lesquels entrent les huiles ou autres graisses comme matière passive.

J'ai fait d'assez nombreux titrages d'activité lipasique en me servant d'huile d'olive pure ou d'huile de coton. Tous ces essais, de quelque façon que l'on opérait, donnaient des résultats absolument contradictoires à chaque changement d'huile, ou, pour un même produit, suivant que l'on neutralisait l'huile avec de la soude N, $\frac{N}{10}$ ou $\frac{N}{50}$.

Le procédé en outre était long et ennuyeux, les pesées d'huile difficiles à exécuter d'une façon parfaite : et c'est seulement pour mémoire que j'indiquerai la technique que j'employais :

Technique. — Une certaine quantité d'huile d'olive vierge était neutralisée *au moment du besoin.* J'en prélevais 10 grammes, que je mettais dans un flacon bouchant à l'émeri avec 0 gr. 10 de Pancréatine à essayer. Un flacon témoin contenait également 10 grammes d'huile mais sans pancréatine Je mettais alors les deux flacons deux heures à digérer à 40°. J'ajoutais ensuite dans chacun d'eux 15^{cc} d'alcool à 95° et 15^{cc} d'éther afin d'empêcher l'hydrolyse des savons formés, puis je titrais l'acidité des deux flacons à la soude $\frac{N}{10}$ en employant comme indicateur la solution de phénolphtaléine .

Je notais le résultat du premier flacon, dont je retranchais le résultat du titrage du second, l'huile s'acidifiant pendant la digestion de deux heures, même sans pancréatine.

En changeant d'huile d'olive, j'ai obtenu avec la même pancréatine :

1er dosage = 44 cc. 1 de NaoH $\frac{N}{10}$.

2^{e} dosage = 98 cc. 2 —

soit plus de 50 % d'erreur.

En résumé, titrer à l'huile, aux beurres, c'était vouloir adopter, et ici portées à leur maximum, toutes les causes d'erreur dont j'ai parlé déjà dans l'étude de l'amylase et tenant à la matière passive, alors que l'on avait à sa disposition, un corps très défini chimiquement, très pur, préparé toujours de la même façon, et qui devait en raison de sa simplicité, fournir constamment des résultats identiques : Ce corps était la monobutyrine.

TITRAGE A LA MONOBUTYRINE. — Je ne parlerai pas de ce produit au point de vue chimique. Qu'il nous suffise de savoir que la lipase le décompose en acide butyrique et en glycérine, et que l'on peut ensuite titrer acidimétriquement cet acide butyrique en le transformant par la soude par exemple en butyrate de soude. Voilà tout le principe de la méthode.

C'est BERTHELOT, qui, le premier, étudiant chimiquement l'action du suc pancréatique, caractérise d'une façon absolue son action sur la monobutyrine.

En 1897, HANRIOT et CAMUS emploient cette monobutyrine pour mesurer le pouvoir lipasique du sérum de cheval, et se servent du carbonate de soude pour le titrage acidimétrique.

En 1911, CHOAY dans son travail sur « les extraits opothérapiques », emploie uniquement cette méthode pour le dosage des activités lipasiques, mais en utilisant une solution de Ba O à 3 gr. 06 par litre.

J'ai étudié à mon tour cette question. Je me suis appliqué à donner au titrage les qualités maxima d'un bon dosage d'usage courant, c'est-à-dire : précision, réduction au minimum des possibilités d'erreur, et en même temps, *objectivité* et *simplicité*, de façon qu'en des mains même peu expérimentées, les résultats soient toujours voisins de la réalité.

J'ai examiné successivement :

1° *La température de la réaction.* — J'ai adopté la température de + 38°, parce qu'elle est voisine de la température maxima d'action de la lipase et surtout, parce que dans tous les laboratoires se trouvent des étuves réglées à cette température, que l'on peut par conséquent maintenir sans précautions spéciales.

2° *La matière passive et la matière active.* — J'ai employé la matière passive et la matière active dans un rapport tel qu'avec une bonne pancréatine, la matière passive reste en excès mais très légèrement.

De cette façon, une erreur dans la pesée de pancréatine modifierait sans doute le chiffre de dosage, mais pas de façon très appréciable.

En conséquence, j'ai employé 1/2 cent. cube de monobutyrine dans 50cc d'eau et 0 gr. 10 de pancréatine.

J'ai, à ce sujet : *a*) fait varier légèrement la quantité de pancréatine pour noter les modifications du dosage et j'ai obtenu les résultats suivants :

Flacon A = 0,080 de pancréatine.
Résultats..... = 12 cc. 3 NaoH $\frac{N}{10}$.

— B = 0,100 de pancréatine.
Résultats..... = 13 cc. 2 NaoH $\frac{N}{10}$.

— C = 0,120 de pancréatine.
Résultats..... = 14 cc. NaoH $\frac{N}{10}$.

Soit une erreur de 7 à 8 % qui serait regrettable et inadmissible en cas de dosages précis, mais n'aurait pas une importance capitale en cas de simple contrôle d'un produit par un pharmacien.

b) J'ai fait varier aussi la quantité de matière passive, et les chiffres suivants montrent que les erreurs sont à peu près de même importance que ci-dessus :

Flacon A = 22 gouttes de monobutyrine.
Résultats..... = 11 cc. 6 NaoH $\frac{N}{18}$.

— B = 29 gouttes de monobutyrine $\left(\frac{1}{2}\text{ cc.}\right)$.
Résultats..... = 13 cc. 6 NaoH $\frac{N}{10}$.

— C = 43 gouttes de monobutyrine.
Résultats..... = 17 cc. —

— D = 58 gouttes de monobutyrine (1 cc.).
Résultats..... = 18 cc. 5 —

3° *La durée de la réaction.* — J'ai adopté *une* 1/2 *heure de digestion,* parce qu'à ce moment, la vitesse d'hydrolyse devient

très faible, sans s'arrêter cependant, et qu'alors une erreur de quelques minutes dans la digestion n'aurait à peu près aucune influence.

Voici les expériences. (Mêmes quantités de matière passive et active. Temps de digestion seul variable) :

Flacon A = $\frac{1}{4}$ d'heure de digestion.

Résultats..... = 11 cc. 4 NaoH $\frac{N}{10}$.

— B = $\frac{1}{2}$ heure de digestion.

Résultats..... = 13 cc. 3. —

- C = $\frac{3}{4}$ d'heure de digestion.

Résultats..... = 13 cc. 7. —

— D = 1 heure de digestion.

Résultats..... .. = 14 cc. —

4° *Stabilisation du digestat.* — Ce point m'a semblé inutile à étudier, puisque le titrage de l'acide butyrique se fait *immédiatement, dans le flacon même*, sans filtration, ni autre traitement du digestat.

5° *Le titrage lui-même.* — Je me suis servi d'une solution de soude, parce qu'elle ne présente, me semble-t-il, aucune infériorité sur les autres alcalins employés, et que d'autre part, elle se trouve dans tous les laboratoires et à la portée de tous.

J'ai employé de la solution de soude $\frac{N}{10}$. On pourrait également, en cas de pancréatines médiocres, se servir d'une solution de soude $\frac{N}{20}$.

L'indicateur choisi a été la phénolphtaléine qui vire au rose lorsqu'une goutte de soude en excès vient rendre le digestat alcalin. Le virage est très net.

6° Enfin, je me suis demandé à quel nombre de centimètres cubes de soude $\frac{N}{10}$, on pourrait s'arrêter pour définir un produit Codex ; et à ce sujet j'ai mesuré l'activité d'un certain nombre de pancréatines commerciales.

α) **Pancréatine Byla** : (préparée à l'étuve à vide sous 0 m. 015 de pression, à + 20-25°).

Caractères : Vieille de trois mois, gardée en flacon à exsicateur, mais ouverte presque tous les jours.

Résultats..... = 13 cc. 2 NaoH $\frac{N}{10}$.

β) **Pancréatine Byla** : (même préparation que ci-dessus).

Caractères : Vieille de 10 mois, conservée en flacon de 60 cc. demi-rempli débouché fréquemment.
Produit jauni et à demi pris en masse.

Résultats..... = 9 cc 4 NaoH $\frac{N}{10}$.

γ) **Pancréatine Byla** : (même préparation que ci-dessus).

Caractères : Vieille de six mois ; conservée en flacon de 125 cc. à bouchon de liège contenant seulement 20 grammes de produit jauni et aggloméré.

Résultats..... = 11 cc. 7 NaoH $\frac{N}{10}$.

δ) **Pancréatine X** : (préparée dans un appareil à vide, sous 0 m. 0005 de pression et aux environs de zéro (+ 3 à 4°)).

Caractères : Vieille de deux à trois mois, conservée en flacon de 60 cc plein et à bouchon de liège, ouvert 5 et 6 fois.

Résultats..... = 10 cc. 9 NaoH $\frac{N}{10}$.

ε) **Pancréatine Z.**

Caractères : Comprimés spécialisés (non amylacés) achetés en droguerie, 2 mois avant l'essai. Correspondance de titre avec la pancréatine poudre indiquée sur le flacon.

Résultats..... = 4 cc. 9 NaoH $\frac{N}{10}$.

Ce que je ferai ressortir, en passant, à la suite de ces titrages, c'est que :

1° Les trois premiers produits, préparés à l'étuve à vide à + 20, 25° ne sont pas inférieurs, loin de là, au produit X, d'apparence très belle et préparé à l'étuve à vide profond aux environs de zéro. Simple constatation d'ailleurs, basée sur des observations restreintes et dont il serait absurde de tirer une loi.

2° La lipase garde très longtemps son activité et même un produit jauni et en grumeaux, conservé dans de mauvaises conditions, exposé fréquemment à la lumière, débouché très souvent, n'a que peu perdu de son activité.

3° Il serait utile, dans l'intérêt même de l'usine productrice, que toute spécialité de produits sensibles à l'action du temps, portât une indication de la date de fabrication. Les comprimés Z, en effet, sont très nettement inférieurs, cela peut-être à cause d'une mauvaise préparation de la pancréatine, mais plus

probablement parce qu'ils sont restés *deux ans, trois ans* chez les divers intermédiaires.

CONCLUSION. — De toutes ces observations, on peut conclure que le titrage de la lipase par la monobutyrine est incontestablement le procédé de choix. Il est extrêmement simple, certainement le plus simple, le plus rapide et le plus sûr de tous les dosages des ferments pancréatiques.

Rédaction proposée :

Dans un flacon de 125^{cc}, bouchant à l'émeri, introduisez un demi-centimètre cube de monobutyrine de la glycérine, vérifiée neutre. Ajoutez 50^{cc} d'eau distillée bien neutre. Portez le mélange un quart d'heure à l'étuve sèche ou au bain-marie à + 38°, puis ajoutez dans le flacon 0 gr. 10 de la pancréatine à essayer. Laissez digérer pendant une demi-heure, en agitant énergiquement une première fois, puis de temps en temps, titrez l'acide butyrique formé par une solution de soude $\frac{N}{10}$, en employant comme indicateur 10 gouttes de solution de phénolphtaléine. Vous devrez obtenir le virage au rose après avoir versé 9^{cc} 5 (1) de la solution alcaline ci-dessus.

---

(1) NOTA. — Le nombre de centimètres cubes de NaoH $\frac{N}{10}$ nécessaires à employer pour saturer l'acide formé par une lipase Codex, dans les conditions que j'ai indiquées, serait à étudier sur un nombre plus varié d'échantillons, tous frais et provenant de toutes maisons de fabrication. Les moyens matériels m'ont fait défaut pour exécuter ce travail.

QUATRIÈME PARTIE

CHAPITRE PREMIER

PRÉPARATIONS INDUSTRIELLES ET MODES D'EMPLOI DE LA PANCRÉATINE

I. — *Préparations industrielles*

HISTORIQUE DE LA QUESTION. — La médication opothérapique a été en faveur depuis une haute antiquité. Des auteurs latins de valeur, Pline en particulier, écrivaient doctement des recettes qui, à n'en pas douter, devaient être très suivies. Les Arabes et tout notre moyen-âge continuèrent et c'est ainsi que pendant des siècles, on ingéra des parties sexuelles, mâles et femelles, pour éveiller les désirs génésiques, du foie d'âne rôti contre le flux hépatique, des cœurs de lion pour exciter à la bravoure, et jusqu'à des excréments de divers animaux.

Aujourd'hui, dans certaines campagnes de France, on recherche encore les parties blanches et sèches des excréments de chiens comme remède de la tuberculose.

Toute cette thérapeutique, évidemment, était exercée de façon empirique, accompagnée de rites absurdes dans lesquels la lune et le soleil jouaient un grand rôle. On comprenait tout de même vaguement et cela sûrement parce que des guérisons avaient eu lieu, que l'absorption d'un organe d'animal peut remédier à l'insuffisance de l'organe semblable de l'homme.

Au 18e siècle, on délaisse peu à peu ces pratiques. Bien souvent en effet, elles devaient aller à l'encontre du résultat demandé, à cause de l'ignorance totale ou l'on se trouvait de l'existence microbienne, des conditions d'asepsie rigoureuse,

absolument nécessaires à cette médication et aussi, parce qu'après des guérisons obtenues, le public avait de suite tendance à généraliser l'emploi du médicament et à en faire une panacée universelle.

C'est surtout en 1889, à l'époque des travaux célèbres de Brown-Séquard, que l'on voit remettre en honneur ces vieux remèdes sous le nom nouveau d'« *Opothérapie* ».

Cependant, pour ce qui regarde le pancréas, dès 1875, HUCHARD, dans « *l'Union médicale de* 1875 » publiait un mémoire sur les effets de la pancréatine et, en 1878, dans la même revue, un article sur le « *traitement des diarrhées chroniques et des dyspepsies gastro-intestinales par la Pancréatine* ».

En 1876, KUHNE indiquait un procédé de préparation de l'extrait de pancréas.

En 1882, LŒW étudiait la nature des ferments pancréatiques.

En 1893, DASTRE démontrait l'indépendance physiologique des ferments du pancréas.

En 1893, également, DORVAULT dans son « officine de pharmacie pratique » indiquait l'essai et les caractères de la pancréatine que le Codex reproduira à peu près textuellement dans son supplément de 1895.

C'est alors un véritable extrait de pancréas et non de la poudre de pancréas, ne contenant que les parties de la glande solubles dans l'eau. Le Codex l'appelle « *Pancréatine médicinale* » « qualification assez peu indiquée », écrit JAVILLIERS, « quand on la rapproche de l'expression *Pepsine médicinale* du Codex 1884 et qui est une pepsine amylacée, tandis que la pancréatine est une pancréatine extractive pure ».

Ce terme « pancréatine médicinale » est d'ailleurs supprimé au Codex 1908, qui continue à définir la pancréatine « une sorte d'extrait aqueux de pancréas ». Quant au supplément de 1920, il persiste à employer le même terme « *extrait de pancréas.* »

Et pourtant, il me semble qu'actuellement, dans toutes les usines, ce que l'on donne comme pancréatine est bien de *la poudre de pancréas* et non de *l'extrait de la glande*, et la confusion des deux termes est, à mon sens, une erreur aussi grande que ne faire aucune distinction entre poudre de quinquina et extrait de quinquina par exemple, plus grave même,

parce que les produits de sécrétion interne peuvent manquer dans de nombreux extraits de pancréas.

Je ne dirai rien des Codex étrangers. Ils sont presque tous en retard sur le nôtre. (Le Codex anglais en est encore à prescrire un extrait liquide de pancréas dans de l'alcool à 20 % !)

Beaucoup d'ailleurs ne citent même pas la pancréatine. Seuls, les Codex anglais, italien, espagnol, japonais et américain en font mention.

A noter seulement dans certains essais (américain, anglais, japonais) l'emploi du Co^3 NaII pour alcaliniser le milieu de digestion et du lait de vache substitué à la fibrine comme matière passive.

PRÉPARATION. — Autrefois donc, on procédait pour l'extraction de la pancréatine, suivant la méthode indiquée par Dorvault, et qui consiste à faire macérer « les pancréas, débarrassés des parties étrangères qui les accompagnent »... « dans l'eau légèrement chloroformée pour empêcher l'altération. Après quelques temps de contact, on jette sur des filtres, le résidu est exprimé et le liquide obtenu filtré et mélangé au précédent. On évapore rapidement dans un courant d'air et dans des vases à large surface, à une température ne dépassant pas 45° ».

Aujourd'hui, voici comment l'on opère dans la plupart des usines pour obtenir la poudre de pancréas.

Les organes grossièrement dégraissés sont broyés au moulin. La pulpe obtenue, étalée sur des plaques de verre cannelées, est desséchée dans des *appareils à vide.* Au sortir de l'appareil, fréquemment la pulpe sèche est dégraissée à l'éther par lixiviation. Après quelques heures, on la passe en courant d'air à + 15° pour évaporer l'éther et on procède à la pulvérisation et au tamisage.

L'opération, théoriquement, est très simple.

Voici les remarques qu'elle m'a suggérées.

1° *Séchage de la pancréatine.* — A quelle température doit-il se faire ?

Certains auteurs préconisent le séchage aux environs de zéro. Evidemment, c'est l'idéal, semble-t-il. Dans plusieurs usines, on est arrivé à obtenir ce séchage à +3 à 4° en cinq heures au moyen du vide sulfurique profond ($1/2^{m/m}$ de

pression). Les appareils sont assez délicats à mettre au point. Si le vide se fait trop profond, il y a congélation et évaporation nulle, et, au contraire, à la moindre perte des joints, la température remonte rapidement.

D'ailleurs, est-ce vraiment bien nécessaire d'atteindre de si basses températures ? Il est certain que les produits provenant du séchage à + 3 à 4° conservent mieux la couleur de l'organe que les autres, mais au point de vue activité fermentaire, il ne semble pas que la différence soit bien grande. Les hormones, on le sait, sont d'ordinaire très résistantes, et quant aux ferments, j'ai titré un grand nombre de pancréatines desséchées dans le vide à 0 m. 015 de pression à + 20 à 25° (séchage en deux heures et demie) dont les trois ferments avaient une activité égale et parfois même supérieure à ceux obtenus par les préparations à + 3 à 4°.

CHOAY, d'ailleurs, avait constaté ce fait que « la chaleur ne paraît pas influencer sensiblement les propriétés dissolvantes et peptonisantes des extraits obtenus *dans le vide* » et que pour les autres ferments son action est peu sensible.

Ce qui importe absolument, c'est de ne *pas dépasser* tout de même une *certaine température* de séchage et surtout de diminuer autant que possible la durée de ce séchage, d'où nécessité par conséquent d'opérer dans le *vide profond*.

Les expériences suivantes, exécutées par Choay montrent parfaitement cette influence *primordiale* de la rapidité du séchage dans le vide, et toute *secondaire* de la température.

« Une même pulpe pancréatique est divisée en quatre portions ; la première est desséchée à froid dans le vide sous 1^{mm} ; la deuxième à + 40° dans un appareil à concentrer, sous 15^{mm} ; la troisième à + 60° dans un appareil semblable, sous 15^{mm} ; enfin la quatrième à + 40° dans une étuve. »

Et voici, d'après Choay, les résultats de l'action des trois ferments de ces quatre portions, chiffres rapportés à 1 gramme d'extrait :

		FIBRINE QUANTITÉS DISSOUTES	EMPOIS DE FÉCULE SUCRE RÉDUIT EN GLUCOSE	MONOBUTYRINE ACIDE BUTYRIQUE LIBRE
Vide	à froid	39,88	21	0,117
	à + 40°	39,44	15,90	0,114
	à + 60°	41,10	18,40	0,121
Etuve à + 40°		29,30	10,30	0,049

Il est assez curieux de remarquer que le maximum d'activité pour les ferments protéolytique et lipasique, ne correspond pas à la fabrication dans le vide *à froid*, mais dans le *même vide à* +60°, précisément parce que, dit Choay « *le séchage a été plus rapide* ».

2° *Dégraissage à l'éther.* — Il vaudrait évidemment mieux le supprimer, car la première qualité d'un produit opothérapique, c'est d'être préparé avec le minimum de manipulations de quelque nature qu'elles soient.

Seulement, dans la pratique, pour obtenir un rendement suffisant, et ne pas amener le prix du produit à des chiffres inabordables, c'est à peu près la seule méthode pratique. Le pancréas est un organe chargé de cellules et d'appendices graisseux, et la poudre de pancréas non dégraissée s'agglutine bien plus rapidement et est d'un emploi plus difficile pour les préparations pharmaceutiques. Or, il n'est guère possible, étant donné le coût de la main-d'œuvre, *d'opérer ce dégraissage à la main.*

D'ailleurs, les pancréatines préparées suivant cette méthode répondent parfaitement aux essais Codex.

II. — *Modes d'emploi de la pancréatine*

Comment, en thérapeutique, utilise-t-on cette poudre de pancréas ?

Les formules données, tant dans les volumes de thérapeutique que dans les formulaires pharmaceutiques, prescrivent la poudre de pancréas :

Soit à *l'état de solution* dans un véhicule approprié,
Soit à *l'état de poudre sèche.*

1° *Pancréatine en solution*

Préparations diverses. — J'ai préparé plusieurs solutions de pancréatine avec des véhicules différents. Les formules

étaient tirées, les unes textuellement, les autres à peu près, de formulaires existant dans toutes les pharmacies.

A) ÉLIXIR DE PANCRÉATINE	B) SIROP DE PANCRÉATINE
Pancréatine 1 gr. Eau distillée 10 gr. Sirop simple 30 gr. Alcool à 80° 8 gr. Vin de malaga noir 50 gr.	Pancréatine 2 gr. Alcool à 60° 4 gr. Eau distillée 4 gr. Sirop d,écorces q. s. p. 100 gr.

C) SOLUTION DE PANCRÉATINE	D) SPÉCIALITÉ PHARMACEUTIQUE
Pancréatine 1 gr. Eau chloroformée q, s. p. 100	— Genre élixir

Leur valeur. — Sur ces différentes préparations, conservées bouchées a la lumière, j'ai essayé l'activité des trois ferments.

La pancréatine employée titrait :

Pour la trypsine = Méthode Sœrensen = 13 cc. NaoH $\frac{N}{10}$.

— l'amylase. = Procédé Bertrand = 2 gr 99 de sucre (en maltose.

— la lipase.. = Procédé indiqué à la

3e partie..... = 13 cc. en NaoH $\frac{N}{10}$.

Elixir de pancréatine (essai 6 jours après la préparation).

Pouvoir trypsique.... = Méthode Sœrensen = 11.
Touche azotique... = bonne.

— amylolytique. = Pas de liquéfaction de l'amidon en empois.

— lipasique.... = réduit à zéro.

Sirop de pancreatine : (essai 11 à 12 jours après sa préparation).

Pouvoir trypsique.... = Méthode Sœrensen = 11.
Touche azotique... = bonne.

— amylolytique. = Sucre réduct. en maltose = 2 gr. 20.
(après déduction du glucose provenant du sirop).

— lipasique.... = 4 en NaoH $\frac{N}{10}$.

Solution chloroformée : (essai 6 jours après la préparation).

Pouvoir trypsique.... = Méthode Sœrensen = 10.
Touche azotique... = bonne.

— amylolytique. = Sucre réduct. en maltose = 0 gr. 425 avec *pouvoir liquéfiant resté très bon.*

— lipasique.... = Réduit à zéro.

Spécialité.

Pouvoir trypsique.... = zéro.

— amylolytique. = zéro.

— lipasique..... = zéro.

La conclusion très nette, c'est que la pancréatine ne doit pas s'administrer en solution, même pour des préparations magistrales et quel que soit le véhicule.

Seul, le sirop avait gardé une certaine activité fermentaire, et cela d'ailleurs très probablement grâce à ce que le liquide étant très visqueux, les particules les plus grosses de la pancréatine s'étaient mal désagrégées et que leur intérieur était resté à l'abri du véhicule.

Ajoutons à cela que ces préparations sont troubles, d'aspect sale et peu engageant, et ces raisons suffiront pour proscrire absolument ces formes de notre thérapeutique.

2° *Pancréatine en poudre*

C'est le mode généralement employé. On administre cette pancréatine :

α) Soit *en cachets*, seule ou accompagnée de diastase de l'orge germé et de pepsine ;

β) Soit en *pilules* nues ou dragéifiées, ou en comprimés.

γ) Soit enfin, *protégée par une enveloppe quelconque* (Kératine, gluten, maïsine) destinée à la protéger contre l'acidité stomacale et à lui permettre d'arriver intacte dans le duodénum, enveloppe qui doit réunir deux qualité primordiales :

Etre insoluble dans l'estomac ;

Se dissoudre avec une grande facilité sous l'action du suc pancréatique.

Valeur de ces formes. — Sous toutes ces formes, la pancréatire, à condition d'être tenue à l'abri de l'humidité, conserve de longs mois tout son pouvoir. Le mode d'emploi en poudre sèche est donc en soi l'idéal, de quelque manière que cette poudre soit préparée.

Mais une question se pose immédiatement : *La protection indiquée plus haut contre l'acidité stomacale est-elle nécessaire ?*

C'est ce que je me proposerai d'étudier dans les pages qui vont suivre.

CHAPITRE II

INFLUENCE DE L'ACIDITÉ STOMACALE SUR LA PANCRÉATINE

La poudre de pancréas, de bonne conservation à l'état sec, dont l'activité fermentaire baisse d'une façon insensible sous l'influence du temps, est ingérée d'ordinaire au commencement, au milieu, ou à la fin des repas et arrive, avant de pénétrer dans le duodénum, dans la cavité stomacale, où elle se trouve en présence d'aliments en transformation et de pepsine, en milieu acide chlorhydrique.

Or, l'on sait que les acides d'une façon générale, non seulement entravent l'action des ferments pancréatiques, mais les altèrent ou les détruisent suivant leur concentration. Une solution de trypsine, la plus résistante des diastases pourtant, «additionnée», dit EFFRONT, «de 0 gr. 5 d'acide sulfurique par litre, puis neutralisée immédiatement a déjà perdu une notable fraction de son pouvoir digestif. Si on laisse l'acide, à cette dose, agir pendant une heure et qu'on neutralise ensuite, on constate une destruction presque complète de la diastase ».

Dans ces conditions, la poudre de pancréas, jetée dans l'estomac sans protection, peut-elle y séjourner deux à trois heurs, temps normal de la digestion stomacale, et arriver au duodénum sans être détruite ou altérée ?

La question présente un intérêt primordial, et je m'y suis arrêté assez longuement.

J'ai expérimenté, évidemment « in vitro », en me rapprochant aussi près que possible des conditions de digestion chez l'individu.

J'ai étudié à tour de rôle chacun des trois ferments en faisant varier quelques facteurs, et j'ai examiné :

1° Si le milieu acide stomacal nuisait aux ferments ;

2° Si les produits de digestion pepsique et la pepsine elle-même corrigeaient ou aggravaient cette influence nocive de l'acidité.

J'ai employé une acidité chlorhydrique, aux doses de 2.70 /$_{00}$ d'Hcl gazeux, et de 1.30 $^{0}/_{00}$ d'Hcl gazeux, limites extrêmes maxima et minima de l'acidité des liquides gastriques (1.80 à 2.30 $^{0}/_{00}$ (Tarbouriech) — 1 à 3 $^{0}/_{00}$ (Effront).

J'ai abaissé même cette acidité à 0.90 $^{0}/_{00}$ d'Hcl gazeux, pour l'amylase.

Pour toutes les expériences j'ai utilisé deux solutions titrées

Solution (I) chlorhydrique à 2.70 $^{0}/_{00}$ d'Hcl gazeux.

Solution (II) de soude neutralisant volume à volume la solution acide.

Chaque expérience citée est la moyenne de deux expériences faites à jours différents.

I. — TRYPSINE

A. — INFLUENCE D'UNE SOLUTION CHLORHYDRIQUE AU TAUX STOMACAL

1° *Influence d'une solution chlorhydrique de* 2.70$^{0}/_{00}$ en Hcl gazeux, agissant pendant deux heures et demie sur de la pancréatine :

Marche des expériences :

EXPÉRIENCE a) = α) J'introduis dans un tube à essai coupé, de 3 à 4 centimètres de longueur et accompagné d'un petit agitateur de verre :

Pancréatine ..... = 0 gr. 20.
Solution acide I. = 4 cc.

et je porte le tout à l'étuve à + 36° 5 pendant 2 heures 1/2 en agitant de temps en temps.

β Je jette le tube à essai et son contenu, agitateur compris, dans la fiole (a) contenant :

Fibrine ..... = 2 gr. 50.
Eau..... = 52 cc.
Solution alcaline II. = 4 cc.

Le milieu devient donc exactement neutre et je me trouve dans les conditions codex d'une digestion pancréatique que j'exécute comme il est prescrit (6 h. à 50°).

EXPÉRIENCE b) *servant de témoin.* = α) tube à essai coupé comme précédemment dans lequel j'introduis :

Pancréatine..... = 0 gr. 20.
Eau bidistillée..... = 4 cc.

je porte à l'étuve à 36°5 pendant 2 h. 1/2 en agitant de temps en temps.

β Le tube à essai et son contenu, agitateur compris, est jeté dans la fiole b contenant :

Fibrine..... = 2 gr. 50.
Eau bidistillée..... = 52 cc.
Solution acide I.... = 4 cc.
Solution acide II... = 4 cc.

et j'opère comme pour l'expérience précédente une digestion pancréatique de 6 h. à 50°.

Les conditions dans les deux expériences sont donc bien exactement semblables, et même une erreur dans le titrage des solutions acide ou alcaline amènerait des perturbations en b) *comme en* a).

La première expérience diffère donc seulement de la deuxième en ce que dans celle-ci, la pancréatine n'a subi que l'action de l'eau distillée à 36°5 *pendant* 2 *h.* 1/2, *tandis que dans celle-là le ferment a été soumis pendant le même temps et à la même température à l'action de la solution chlorhydrique à* 2.70°/₀₀ .

Résultats :

1° *Série d'expériences :*

	TOUCHE AZOTIQUE	MÉTHODE SŒRENSEN $\left(\text{NaoH } \frac{N}{10}\right)$ acidité
Expérience *a*)	Précipité	1,7
Témoin *b*)	Très clair	12,3

2° *Série d'expériences* : (mêmes conditions que ci-dessus).

	TOUCHE AZOTIQUE	MÉTHODE SŒRENSEN $\left(\text{NaoH } \frac{N}{10}\right)$ acidité
Expérience *a*	Précipité	1,5
Témoin *b*	Très clair	13

2° *Influence d'une solution chlorhydrique de* 1.30°/₀₀ en Hcl gazeux, agissant pendant deux heures et demie sur de la pancréatine.

Marche des expériences :

Semblable en tous points à celle des expériences précédentes, avec solutions titrées I et II diluées au 1/2.

Résultats :

1° *Série d'expériences :*

	TOUCHE AZOTIQUE	SŒRENSEN ACIDITÉ EN NaoH $\frac{N}{10}$	EXTRAITS SECS
Expérience *a*	Très claire	8,2	2 gr. 420
Témoin *b*	Très claire	12,9	2 gr. 472

2° *Série d'expériences :*

	TOUCHE AZOTIQUE	SŒRENSEN ACIDITÉ EN NaoH $\frac{N}{10}$	EXTRAITS SECS
Expérience *a*	Très claire	7,7	2 gr. 395
Témoin *b*	Très claire	13.2	2 gr. 483

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS. — L'acidité chlorhydrique à 2.70 °/₀₀ détruit en grande partie le ferment trypsique.

L'acidité chlorhydrique à 1.30 °/₀₀ diminue seulement la puissance d'action de la trypsine. La quantité de fibrine *dissoute* est peu différente entre les *expériences a* / et les *témoins*, mais le clivage de la molécule albuminoïde par la pancréatine ayant subi Hcl à 1.30 °/₀₀ est nettement moins poussé, comme le témoignent les dosages d'acides aminés.

B. — INFLUENCE D'UNE DIGESTION PEPSIQUE CHLORHYDRIQUE DE FIBRINE DE 2 h. 1/2 SUR LA TRYPSINE PANCRÉATIQUE

1° *Avec acidité de* 2.70°/₀₀ *, en Hcl gazeux.*

Marche des expériences :

Expérience *a*) = α), dans un flacon jaugé de 125 cc bouchant à l'émeri, j'introduis :

Fibrine..... = 2 gr. 50.
Pepsine ..... = 0 gr. 10.
Pancréatine..... = 0 gr. 20.
Solution acide I.... = q. s. p. 30 cc. soit 28 cc.

et je porte à l'étuve à 36°5 pendant deux heures et demie.

β) Je prélève après les 2 h. 1/2, et en agitant énergiquement *quinze centimètres cubes du digestat*, sur lesquels, je fais un titrage d'acides aminés par la méthode de sœrensen (*titrages pepsiques.*)

γ) Les 15cc restant dans le flacon jaugé sont neutralisés par 14cc de solution alcaline I puis remis à digérer pendant 6 heures à 50°. Le digestat est filtré et je procède aux essais (*titrages pancréatiques*).

Dans l'interprétation des résultats, je n'aurai donc qu'à retrancher le chiffre trouvé aux « dosages pepsiques » représentant la quantité d'acides aminés formés dans le milieu stomacal chlorhydropepsique reproduit « in vitro », du chiffre trouvé aux « dosages pancréatiques » qui donne la somme des acides aminés formés avant neutralisation du milieu et par la pancréatine après neutralisation de ce milieu.

EXPÉRIENCE B. servant de témoin. — Je procède exactement comme ci-dessus, sauf que la pancréatine n'est ajoutée qu'après les deux heures 1/2 de digestion pepsique et neutralisation du liquide. Je n'introduis évidemment que 0,10 de pancréatine, correspondant aux 0,10 restant à l'expérience A, dans les 15cc de digestat pepsique (1).

Résultats :

1re *Série d'expérienees*

Titrages pepsiques.

	SŒRENSEN NaoH $\frac{N}{20}$ (2)	EXTRAITS SECS	RÉACTION DT TRYPTOPHANE A L'EAU DE BROME
Expérience *a*)	3,6	1 gr. 58	Négative
Témoin *b*)	2,1	1 gr. 45	—

Titrages pancréatiques.

	SŒRENSEN NaoH $\frac{N}{20}$	EXTRAITS SECS	RÉACTION DU TRYPTOPHANE
Expérience *a*)	6	2 gr. 18	Positive
Témoin *b*)	26,4	2 gr. 54	—

2e *Série d'expériences.*

Titrages pepsiques.

	SŒRENSEN NaoH $\frac{N}{20}$	EXTRAITS SECS	RÉACTION DU TRYPTOPHANE
Expérience *a*)	3,5	1 gr. 54	Négative
Témoin *b*)	2,2	1 gr. 42	—

(1) NOTA. — Dans les « titrages pancréatiques », j'ai opéré évidemment sur des prises d'essai doubles de celles prélevées pour les titrages pepsiques, parce que mon liquide de digestat était de concentration moitié moindre (1.25 de fibrine contre 2.50).

2) J'ai procédé avec de la soude $\frac{N}{10}$ les dosages pepsiques ne donnant que très peu d'acidité.

Titrages pancréatiques

	SŒRENSEN NaoH $\frac{N}{20}$	EXTRAITS SECS	RÉACTION DU TRYPTOPHANE
Expérience *a*)	5,6	2.gr. 13	Positive
Témoin *b*)	28,5	2 gr. 60	—

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS. — Une acidité de 2,70 ‰ avec digestion pepsique *très concentrée pourtant* en albuminoïdes (concentration double de celle ordonnée par le Codex) attaque fortement le ferment trypsique de la poudre de pancréas.

Ce ferment garde encore un certain pouvoir de dissolution, qui est à peine réduit de moitié (0 gr. 57 d'extrait sec contre 1 gr. 10 au témoin, en retranchant l'extrait sec pepsique), mais le clivage de la molécule n'est plus poussé du tout et la formation d'acides aminés est sensiblement nulle (2^{cc} 4 d'acidité en soude $\frac{N}{20}$ contre 24,3 au témoin).

La présence des peptones et autres produits de la digestion pepsique n'a donc pas sensiblement protégé le ferment trypsique et la quantité d'acides aminés correspond parfaitement à celle trouvée après titrage de la pancréatine ayant subi la solution pure d'Hcl à 2,70 °/₀₀.

2° *Avec acidité de* 1,30 °/₀₀ *en Hcl gazeux.*

a). Digestion pepsique à *concentration double* de celle prescrite par le Codex. Digestion pancréatique à concentration égale à celle du Codex.

Marche des expériences

Quatre flacons de 125^{cc} bouchés à l'émeri (1-2-3-4)
α) Dans ces flacons, j'introduis :

Solution acide à 1,30 0/00. = 30 cc.
Fibrine..... = 2 gr. 50.
Pepsine..... = 0 gr. 10.

Dans les flacons 1 et 2 j'ajoute en outre, 0 gr. 20 de pancréatine. Je fais digérer ensuite le contenu des quatre flacons pendant 2 h. 1/2 à 36°5 et je filtre le contenu des flacons 1 et 3 sur lesquels je fais les *essais pepsiques* (3 servant de témoin sans pancréatine).

β) Je neutralise les liquides des flacons 2 et 4 ; j'ajoute dans le flacon 4 0,20 de pancréatine et je procède à une digestion pancréatique de 6 h. à 50° et aux titrages pancréatiques (4 servant de témoin avec une pancréatine n'ayant pas subi le milieu pepsique acide).

Résultats :

1re *Série d'expériences.*

Titrages pepsiques.

FLACONS	SŒRENSEN NaoH $\frac{N}{20}$	RÉACTION DU TRYPTOPHANE
1	14,7	Très positive
3 (témoin)	3,1	

Titrages pancréatiques.

FLACONS	SŒRENSEN NaoH $\frac{N}{20}$	TOUCHE AZOTIQUE	EXTRAITS SECS
2	21	Claire	2 gr. 430
4 (témoin)	26,9	Très claire	2 gr. 580

2e *Série d'expériences.*

Titrages pepsiques.

FLACONS	SŒRENSEN NaoH $\frac{N}{20}$	RÉACTION DU TRYPTOPHANE
1	14,5	Très positive
3	3,6	

Titrages pancréatiques.

FLACONS	SŒRENSEN NaoH $\frac{N}{20}$	TOUCHE AZOTIQUE	EXTRAITS SECS
2	22,1	Claire	2 gr. 432
4	27,5	Très claire	2 gr. 602

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS. — Dans ces deux séries d'expériences, la pancréatine a donc agi *considérablement pendant la digestion pepsique*, comme le prouvent le

titrage des acides aminés (13,8 en moyenne contre 3 au témoin) et la réaction du tryptophane, caractéristique d'une digestion pancréatique.

Son action, d'autre part, a été très faible après neutralisation (7,9 en moyenne contre 23,5 au témoin, en retranchant les chiffres de digestion pepsique).

b) Digestion pepsique à *concentration* égale à celle prescrite par le Codex. Digestion pancréatique Codex, mais avec seulement 1 gr. 25 de fibrine. (1).

Marche des expériences.

Deux flacons de 250cc bouchés à l'émeri 1 et 2.

α) Dans ces deux flacons, j'introduis :

Solution acide à 1,30 0/00 = 58 cc.
Fibrine..... = 2 gr. 50.
Pepsine..... = 0 gr. 10.

Dans le flacon 1, j'ajoute en outre 0 gr. 40 de pancréatine, et je fais digérer le contenu des deux flacons 2 h. 1/2 à 36° 5 ; puis je prélève après agitation énergique de chacun d'eux, 30cc des digestats sur lesquels je fais les essais pepsiques.

β) Je neutralise le contenu des deux flacons par 29cc de solution de soude (II) au 1/2 ; j'ajoute dans le flacon 2, 0, 20 de pancréatine, correspondant aux 0,20 restant en 1, et je procède à une digestion pancréatique de 6 heures à 50° ; puis aux titrages pancréatiques (2 servant de témoin).

Résultats :

1re *Série d'expériences.*

Titrages pepsiques.

FLACONS	SŒRENSEN NaoH $\frac{N}{20}$	RÉACTION DU TRYPTOPHANE
1	5	Négative
2	4,2	—

(1) NOTA. — Pour ramener la concordance entre les résultats de digestions pepsiques et pancréatiques, j'ai, pour les essais de ces derniers, doublé les prises d'essai.

Titrages pancréatiques = (avec double prise d'essai).

FLACONS	SŒRENSEN NaoH $\frac{N}{20}$	TOUCHE AZOTIQUE	EXTRAITS SECS
1	7,5	Louche	2 gr.
2	30	Très claire	2 gr. 60

2° *Série d'expériences.*

Titrages pepsiques.

FLACONS	SŒRENSEN NaoH $\frac{N}{20}$	RÉACTION DU TRYPTOPHANE
1	4,4	Négative
2	3,7	—

Titrages pancréatiques = (avec double prise d'essai).

FLACONS	SŒRENSEN NaoH $\frac{N}{20}$	TOUCHE AZOTIQUE	EXTRAITS SECS
1	6,9	Louche	2 gr. 05
2	29,6	Très claire	2 gr. 64

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS. — Ici, la pancréatine *n'a pas agi pendant la digestion pepsique*. Les deux séries d'expériences sont concordantes. D'autre part, le ferment trypsique a été affaibli au point de donner une quantité très faible d'acides aminés après neutralisation du milieu (acidité de $2^{cc}5$ évaluée en soude $\frac{N}{20}$ contre $28^{cc},8$ au témoin).

C. — CONCLUSIONS

1° Avec une acidité chlorhydrique de $2.70^0/_{00}$ avec ou sans fibrine et pepsine, le ferment trypsique de la pancréatine est très fortement attaquée et ne recouvre pas sa puissance d'action après neutralisation.

2° Avec une acidité chlorhydrique pure de $1.30^0/_{00}$, la puissance du ferment pancréatique est seulement affaiblie d'un quart environ en tant que solubilisant, d'un tiers au moins en tant que producteur d'acides animés.

Si, d'autre part, on ajoute à cette solution acide de 1.30 ‰ outre la pancréatine, de la pepsine et de la fibrine, et que l'on fasse une digestion à température stomacale de deux heures et demie, la trypsine, après neutralisation du milieu, se comporte d'une façon diamétralement opposée suivant la concentration du milieu de digestion pepsique.

a) Si le milieu de digestion pepsique est très concentré en albuminoïdes, la pancréatine agit considérablement pendant cette digestion pepsique, et peu ensuite pendant la digestion pancréatique.

b) Si le milieu de digestion pepsique est peu concentré en albuminoïdes, la pancréatine n'agit pas ou fort peu pendant la digestion pepsique, mais se trouve altérée définitivement et ne retrouve pas son activité après neutralisation.

Ces actions des ferments s'expliquent d'ailleurs, parce que dit EFFRONT « les travaux de Gurber, d'Erb, d'Arrhénius ont montré que les matières albuminoïdes peuvent entrer en réaction avec l'Hcl et former des combinaisons analogues au chlorhydrate d'ammoniaque. »

Dans le cas de digestions pepsiques très concentrées en albuminoïdes, presque tous les Hcl se fixent sur la molécule albuminoïde, le milieu tend vers la neutralité et immédiatement le ferment pancréatique entre en action.

Dans l'un et l'autre cas, la pepsine (lorsqu'il reste évidemment sufisamment d'acidité pour lui permettre d'agir) paraît très nocive pour la trypsine. Soit qu'elle la laisse agir ou non pendant la digestion pepsique, elle altère de telle sorte le ferment pancréatique qu'il ne conserve qu'un pouvoir profond (production d'acides aminés) insignifiant après neutralisation.

II. — AMYLASE

Produits employés : *Solution acide chlorhydrique à* 2.70‰ (I) ; *solution alcaline NaoH* (II).

Carbonate de chaux pur, que l'on peut employer ici sans inconvénient pour s'assurer de la neutralisation du milieu.

A. — INFLUENCE D'UNE SOLUTION CHLORHYDRIQUE AU TAUX STOMACAL

1° *Influence d'une solution de* 2.70 ‰ *en Hcl gazeux*, agissant pendant deux heures et demie sur de la pancréatine.

Marche des expériences :

Expérience a) = α J'introduis dans un tube à essai coupé de 3 à 4 centimètres de longueur et accompagné d'un petit agitateur de verre :

Pancréatine..... = 0 gr. 10.
Solution acide I..... = 4 cc.

et je porte le tout à l'étuve à + 36°5 pendant 2 h. 1/2 en agitant de temps en temps.

β) Je jette le tube à essai et son contenu, agitateur compris, dans la fiole *a*) contenant :

Empois à 6 0/0..... = 100 cc.
Solution alcaline II..... = 4 cc.
Carbonate de chaux..... = 0 gr. 10.

et je procède à une digestion amylolytique suivant le procédé indiqué au chapitre amylase.

Témoin b). — Exactement comme ci-dessus, sauf que je fais la macération de 2 h 1/2 à 36°5 de la pancréatine avec de l'eau bidistillée.

Pour rendre les 2 expériences absolument identiques, j'ajoute dans l'empois : 4 cc de solution acide I + 4 cc de solution alcaline II + 0 gr. 10 de Co3 ca.

Résultats :

1re *Série d'expériences*

FIOLES	LIQUÉFACTION DE L'EMPOIS	SUCRE FORMÉ (en maltose)
a	Pas de liquéfaction même après deux heures.	Néant
b	Liq. en deux minutes.	3 gr. 45

2e *Série d'expériences*

FIOLES	LIQUÉFACTION DE L'EMPOIS	SUCRE FORMÉ (en maltose)
a	Pas de liquéfaction même après deux heures.	Néant
b	Liq. en deux minutes.	3 gr. 55

2° *Influence d'une solution chlorhydrique de* 1.30 $^0/_{00}$ *en Hcl gazeux, agissant pendant deux heures et demie sur de la pancréatine.*

Marche des expériences :

Semblable en tous points à celle des expériences précédentes avec solution acide et alcaline diluées au 1/2.

Résultats :

1re *série d'expériences.*

FIOLES	LIQUÉFACTION DE L'EMPOIS	SUCRE FORMÉ (en maltose)
a	Pas de liquéfaction.	Neant
b	Liq. en deux minutes.	3 gr. 50

2e *Série d'expériences.*

FIOLES	LIQUÉFACTION DE L'EMPOIS	SUCRE FORMÉ (en maltose)
a	Pas de liquéfaction.	Néant
b	Liq. en deux minutes.	3 gr. 50

3° *Influence d'une solution chlorhydrique de* 0.90 $^0/_{00}$ *en* Hcl gazeux, agissant pendant deux heures et demie sur de la pancréatine.

Marche des expériences :

Semblable à celle des expériences précédentes avec solutions I et II ramenées au taux voulu (autre pancréatine).

Résultats :

1re *Série d'expériences*

FIOLES	LIQUÉFACTION DE L'EMPOIS	SUCRE FORMÉ (en maltose)
a	Liquéfaction commencée après 20 minutes. Incomplète après deux heures.	Néant
b	Liq. en deux minutes.	3 gr. 75

2e *Série d'expériences*

FIOLES	LIQUÉFACTION DE L'EMPOIS	SUCRE FORMÉ (en maltose)
a	Demie liquéfaction.	Néant
b	Liq. en deux minutes.	3 gr. 70

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS. — L'acidité chlorhydrique de 2.70 ‰, 1.30 ‰ et même 0.90 ‰ est fatale au ferment amylolytique dans la poudre de pancréas. Le pouvoir liquéfiant, plus résistant pourtant est détruit, sauf avec l'acidité à 0.90 ‰ où il conserve quelque vitalité.

B. — INFLUENCE D'UNE DIGESTION PEPSIQUE CHLORHYDRIQUE DE FIBRINE DE 2 h. 1/2 SUR L'AMYLASE DANS LA PANCRÉATINE

1° *avec acidité de 2.70 ‰ en Hcl gazeux.*

Marche des expériences :

Flacon a. — Je mets dans ce flacon :

Fibrine.....	4 gr. — 2 gr. ou 1 gr. suivant les expériences.
Pepsine.....	0 gr. 20
Solution acide (I)....	60 cc.

Je porte le mélange à 50° pendant 1/2 heure, puis après avoir ramené la température à 36° 5, j'ajoute 0 gr. 60 de pancréatine, et je laisse digérer à cette température pendant 2 h. 1/2.

Témoin b. — Idem ci-dessus, mais sans pancréatine.

Je prélève alors dans les deux flacons 22 cc de digestat après agitation. Je neutralise ces 22 cc par 18 cc de solution de soude (II) ; J'ajoute 0 gr. 20 de carbonate de chaux pour être assuré de la neutralisation du milieu, puis, je jette dans le témoin b, 0,20 de pancréatine macérée dans de l'eau bidistillée à 36°5 pendant deux heures et demie. Ces 0,20 de pancréatine correspondent aux 0,20 contenus dans les 22 cc de prise d'essai du flacon a.

Je verse les deux prises d'essai neutralisées et contenant chacune 0,20 de pancréatine ayant subi l'acidité pour a, l'eau distillée pour le témoin, dans deux fioles d'Erlenmeyer de 250 cc contenant 100 cc d'empois d'amidon à 6 %. Je rince les deux vases ayant contenu les prises d'essai, avec 25 cc d'eau bidistillée et je joins les eaux de lavage aux empois. Je fais enfin une digestion amylolytique dans les conditions indiquées dans la partie « Amylase ».

Résultats :

1re *Série d'expériences*

Avec quatre grammes de fibrine.

FIOLES	LIQUÉFACTION	SUCRE FORMÉ (maltose)	RÉACTION TRYPTOPHANE (sur digestat pepsique)
a	Néant	Néant	Négative
(témoin) *b*	Immédiate	4,25	—

2e *Série d'expériences.*

Avec deux grammes de fibrine.

FIOLES	LIQUÉFACTION	SUCRE FORMÉ (maltose)	RÉACTION TRYPTOPHANE (sur digestat pepsique)
a	Néant	Néant	Négative
(témoin) *b*	Immédiate	4,15	—

2° *avec acidité de* 1,30 °/₀₀ *en Hcl gazeux.*

Marche des expériences :

Même technique que pour les expériences précédentes.

1re *Série d'expériences.*

Avec quatre grammes de fibrine.

FIOLES	LIQUÉFACTION	SUCRE FORMÉ (maltose)	RÉACTION TRYPTOPHANE (sur digestat pepsique)
a	Immédiate	3 gr. 72	Très positive
(témoin) *b*	Immédiate	4 gr. 05	—

Avec deux grammes de fibrine.

FIOLES	LIQUÉFACTION	SUCRE FORMÉ (maltose)	RÉACTION TRYPTOPHANE (sur digestat pepsique)
a	Assez rapide et complète.	Néant	Positive
(témoin) *b*	Immédiate.	4 gr. 20	—

3° *avec acidité de* 0 gr. 90 °/₀₀ *en Hcl gazeux.*

Marche des expériences :

Même technique que pour les expériences précédentes.

1re *Série d'expériences.*

Avec quatre grammes de fibrine.

FIOLES	LIQUÉFACTION	SUCRE FORMÉ (maltose)	RÉACTION TRYPTOPHANE (sur digestat pepsique)
a	Immédiate	4 gr.	Très positive
(témoin) *b*	Immédiate	4 gr.	—

Avec un gramme de fibrine.

FIOLES	LIQUÉFACTION	SUCRE FORMÉ (maltose)	RÉACTION TRYPTOPHANE (sur digestat pepsique
a	Néant	Néant	Légèrement positive
b	Immédiate	4, 25	—

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS. — Dans toutes ces expériences, l'acidité chlorhydrique est fatale au ferment toutes les fois qu'il reste assez d'acide libre pour empêcher la trypsine d'agir pendant les digestions pepsiques. Lorsque la trypsine commence à agir (réaction du tryptophane positive) un certain pouvoir liquéfiant reste au ferment amylolytique. Ce n'est que lorsque la réaction du tryptophane s'accuse *très positive* que le ferment amylolytique (liquéfiant et saccharifiant) demeure à peu près intact.

C. —. CONCLUSIONS

Les réactions de l'amylase aux différents milieux acides sont donc tout à fait analogues à celles du ferment protéolytique, mais avec *beaucoup plus de sensibilité* de la part de l'amylase.

Une acidité chlorhydrique de 2.70 $^0/_{00}$, soit pure, soit en présence de pepsine et de fibrine de concentration même très forte, empêche toute action ultérieure du ferment après neutralisation.

2° *Une acidité chlorhydrique pure de* 1.30$^0_{,00}$ détruit également l'amylase.

Vis-à-vis d'une acidité chlorhydrique de 1.30 $^0/_{00}$ avec pepsine et fibrine, le ferment amylolytique se comporte, à l'instar de la trypsine et pour les mêmes raisons. de façon toute différente suivant la concentration du milieu en albuminoïdes.

Si le milieu est très concentré (4 gr. fibrine) il devient à peu près neutre, le tournesol bleu ne rougit plus, la trypsine agit (réaction de tryptophane positive) et le ferment amylolytique est à peine atténué : après neutralisation. la liquéfaction de l'empois est immédiate et la quantité de sucre formé presque égale à celle du témoin.

Si la concentration du milieu en albuminoïdes diminue

(2 gr. de fibrine seulement) la destruction du ferment est complète.

3° Enfin une *activité pure de* 0.90 °/₀₀ en Hcl gazeux, laisse après neutralisation du milieu quelque pouvoir liquéfiant à l'amylase, mais lui enlève tout pouvoir saccharifiant.

En milieu albuminoïdique concentré (4 gr. fibrine) l'amylase reste absolument intacte.

En milieu albuminoïdique faible (1 gr. fibrine) il ne se produit pas même après neutralisation de commencement de liquéfaction de l'empois, comme avec l'acidité pure de même teneur en Hcl. Ici, comme pour la trypsine, la pepsine, trouvant suffisamment d'acide libre pour agir, a exercé une influence nocive sur l'amylase.

III. — LIPASE

INFLUENCE DE L'EAU DISTILLÉE à + 36°5 SUR LA LIPASE. — La question se trouve ici très simplifiée du fait que la simple macération de la pancréatine dans de l'eau bidistillée pendant deux heures et demie lui enlève les deux tiers de son pouvoir lipasique.

Dès mes premières expériences sur l'influence de l'acidité chlorhydrique sur la lipase, je me suis aperçu que les témoins eux-mêmes ne m'accusaient au titrage qu'un très faible pouvoir lipasique.

Après un certain nombre d'essais, je me suis convaincu de l'inutilité de pousser plus avant, et j'ai seulement cherché à prouver de façon indubitable que c'était bien l'eau seule à 36°5 et non mes solutions acides et alcalines qui altéraient le ferment.

J'ai alors opéré de la façon suivante :

Expérience a) = α = Tube à essai de 4 cm. de longueur contenant : Pancréatine : 0 gr. 10, eau bidistillée : 2 cc
que je porte à 36°5 pendant 2 h. 1/2.

β Le tube à essai et son contenu est versé dans un flacon contenant :

Monobutyrine..... = $\frac{1}{2}$ cc.
Eau bidistillée..... = 40 cc.
Solution acide I..... = 4 cc.
Solution alcaline II..... = 4 cc.

} Digestion à 38° aux conditions indiquées à la partie : Lipase.

Résultat : 4 cc. 4 $\left(\text{en NaoH } \frac{N}{10}\right)$.

Expérience b). — Même technique exactement, mais en n'ajoutant dans le flacon ni solution acide I, ni solution alcaline II

Résultat : 4 cc. 2 $\left(\text{en NaoH}\frac{N}{10}\right)$.

Expérience c). — La pancréatine en poudre est jetée sans macération préalable dans le flacon de digestion contenant :

Monobutyrine..... $= \frac{1}{2}$ cc.
Solution acide I..... = 2 cc.
Solution alcaline II..... = 2 cc.
Eau bidistillée..... = 46 cc.

} Digestion à 38° aux conditions indiquées à la partie : Lipase.

Résultat : 13 cc. 1 $\left(\text{en NaoH}\frac{N}{10}\right)$.

Expérience d). — Même technique exactement qu'en c mais en n'ajoutant dans le flacon ni solution acide I, ni solution alcaline II.

Résultat : 13 cc. 2 $\left(\text{en NaoH}\frac{N}{10}\right)$.

La conclusion s'impose donc certaine. Dans les expériences a et b les résultats sont bien semblables, qu'on ajoute solution acide et alcaline ou non, et inférieures de deux tiers au moins aux expériences C et D.

La macération dans l'eau pure à 36°5 est donc la cause suffisante de l'altération de la lipase.

INFLUENCE DE LA DURÉE DE LA MACÉRATION. — Avant de terminer enfin, j'ai tenu à faire quelques expériences pour montrer l'altération progressive du ferment lipasique suivant la durée de la macération dans l'eau à 36°5, et voici la gamme très régulièrement décroissante que j'ai obtenue :

a) Pas de macération..... = 13 cc. 3
b) Macération de $\frac{3}{4}$ d'heure..... = 9 cc.
c) Macération de 1 heure $\frac{3}{4}$ ..... = 5 cc. 2.
d) Macération de 2 heures $\frac{1}{2}$ ..... = 4 cc. 1
e) Macération de 3 heures..... = 2 cc

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS. — Non seulement l'acidité, mais seulement le passage dans de l'eau très pure à température stomacale et pour une durée normale de digestion altère profondément le ferment lipasique, et, pour ce ferment, il devient bien difficile de nier la nécessité absolue d'une protection jusqu'au duodénum.

IV. — CONCLUSIONS

L'étude de l'influence de l'acidité chlorhydrique sur les trois ferments pancréatiques montre donc indubitablement que, même pour le ferment trypsique, une acidité stomacale « in vitro » avec ou sans digestion pepsique est funeste aux ferments.

Il semble que, « in vivo » le processus doit s'accomplir d'une façon semblable et même d'une manière plus nocive encore. Il ne faut pas oublier en effet :

1° Que dans l'estomac, se trouvent fréquemment des liquides alcooliques, des tannins et autres produits incompatibles avec les ferments pancréatiques.

2° Que ce phénoméne de neutralisation du milieu par les albuminoïdes qui se produit « in vitro » ne doit pas avoir lieu dans l'estomac : les cellules à Hcl fabriquant de nouvel acide au fur et à mesure de sa combinaison avec la molécule albuminoïde afin de maintenir le contenu stomacal à un degré d'acidité constant.

3° Enfin que la pepsine qui parait exercer son pouvoir de digestion sur la poudre de pancréas et dissoudre au moins l'enveloppe protéique des ferments, si elle n'atteint pas ces ferments eux-mêmes, est beaucoup plus active à l'état naissant dans l'estomac, qu' « in vitro » dans un flacon à l'étuve.

Autant donc que l'on peut tirer des conclusions d'expériences de laboratoire, en ce qui concerne un phénomène physiologique, il apparait bien qu'il soit nécessaire de faire arriver la poudre de pancréas au niveau du duodénum, protégée d'une façon quelconque contre l'acidité et le liquide stomacal..

Je me contenterai de citer les moyens de protection que l'on a cherché à employer jusqu'à ce jour. Ce sont : la Kératine, le salol, le collodion, les matières grasses.

Pour Vaudin, Donnart et Labbé, toutes ces substances présentent des inconvénients et ces auteurs préconisent la « *Maïsine* », inaltérable par le temps, l'humidité, la chaleur, insoluble dans l'eau, très lentement soluble dans le suc gastrique et *très rapidement attaquée* sous l'influence du suc pancréatique. La Maïsine étant soluble à parties égales dans l'acide acétique cristallisable, il est facile d'obtenir par évaporation des pellicules minces et souples qui peuvent servir à enrober

sous petit volume. L'important évidemment est de fabriquer une pellicule d'une épaisseur telle qu'elle résiste au suc gastrique et soit dissoute presque immédiatement par le suc pancréatique.

Des expériences « *in vitro* » et « *in vivo* » s'imposeraient pour déterminer la valeur de chacun de ces corps protecteurs et l'épaisseur nécessaire des enveloppes. La question est fort intéressante mais nécessite un outillage spécial et des moyens matériels impossibles à obtenir dans un laboratoire n'attenant pas à une usine de produits opothérapiques.

CONCLUSIONS

De tout ce travail, je tirerai les conclusions suivantes :

1° Les ferments, *invertîne et lactase*, n'existent pas ou sont inopérant dans la poudre de pancréas.

2° Au sujet de l'essai DU POUVOIR AMYLOLYTIQUE, mes expériences m'ont prouvé que la *matière passive*, la fécule de pommes de terre, mesure de l'activité fermentaire est imparfaite parce que trop compliquée chimiquement. Cette fécule de pommes de terre, le meilleur des amidons pourtant, entraîne fréquemment, suivant son mode de préparation (qualité des eaux de lavage, tamisage) son mode de conservation et la façon de fabriquer l'empois, des résultats variant avec une même pancréatine type, d'au moins 20 %. Le seul remède pour améliorer à ce sujet les essais et les titrages consiste dans certaines précautions que j'ai données (uniformité de provenance des fécules, division du lot en petits flacons bouchés à l'émeri, et comparaison sévère d'un nouvel achat avec le lot précédent).

J'ai ensuite examiné la *matière active*, l'amylase, et j'ai montré : a) Que dans les conditions Codex, la pesée minutieuse de 0 gr. 05 de pancréatine est nécessaire parce que la matière passive est en excès par rapport à la diastase, et que la vitesse d'action croit quand on augmente la quantité du catalyseur.

b) Que le titre « 100 »n'est nullement représentatif de l'activité d'une diastase Codex, tout l'amidon n'étant pas saccharifié.

Quant à l'essai lui-même, avec les quelques modifications de détail que j'y ai apportées, il est suffisant pour le pharmacien qui n'a besoin que de vérifier un titre limite, mais devrait être complété par un titrage (méthode de Bertrand par exemple) nécessaire pour être renseigné sur le degré de qualité d'un produit.

3° Au sujet de l'ESSAI DU POUVOIR PROTÉOLYTIQUE, j'ai démontré que la *matière passive*, la fibrine de porc, que l'on doit employer desséchée et *non essorée*, mesure d'une façon suffisante (en égard à l'action extrêmement complexe du ferment et à la non homogénéité chimique d'une matière passive physiologique) l'activité protéolytique d'une poudre de pancréas. J'ai indiqué l'utilité qu'il y aurait à stabiliser cette fibrine par un passage de deux minutes dans l'eau à +80° avant sa pulvérisation, et j'ai prouvé ensuite que la tamisation de la matière passive, si importante pour la fécule ne jouait ici pratiquement aucun rôle, du moins dans les conditions d'une digestion Codex et avec les tamis ordinairement employés dans l'industrie (tamis 80 à 140).

4° Dans mon étude du FERMENT LIPOLYTIQUE, je me suis borné à indiquer une méthode d'essai pratique de ce ferment.

J'ai écarté après expériences, les titrages à l'huile ou aux beurres qui reproduisent, et poussés à l'extrême, tous les inconvénients des matières passives précédentes.

J'ai adopté le titrage à la monobutyrine, substance chimique bien définie et donnant, en opérant comme je l'ai indiqué des résultats précis, rapides et d'une technique très simple.

5°Dans UNE DERNIÈRE PARTIE, j'ai étudié d'abord l'action des diverses préparations industrielles sur la poudre de pancréas. La valeur de ces préparations dépend plutôt de la simplification des manipulations et de la rapidité du *séchage dans le vide profond* que de la température à laquelle est faite ce séchage (sans exagération toutefois (+ 30 à + 40°).

J'ai passé ensuite en revue les différents modes d'emploi de la pancréatine : poudre et solutions. Ces dernières formes galéniques sont à proscrire de la thérapeutique quel que soit le véhicule employé et la durée de leur conservation.

Quant à la forme poudre, elle est en elle-même parfaite et de bonne conservation, mais toutes mes expériences (in vitro) tendent à prouver de façon péremptoire que cette poudre ne doit être administrée que sèche et à l'intérieur de capsules qui la préserve des liquides et surtout de l'acidité stomacale.

A) En effet, une pancréatine de titre connu, soumise à

une acidité chlorhydrique de 2,70 °/₀₀ en Hcl gazeux a perdu grande partie de son pouvoir trypsique et entièrement son pouvoir amylolytique et lipasique.

La même pancréatine, soumise à une acidité chlorhydrique de 1,30 °/₀₀ en Hcl gazeux pendant le même temps est fortement diminuée quant à son pouvoir de protéolyse et est annihilée définitivement quant à ses pouvoirs amylolytique et lipasique.

Une macération de 2 h. 1/2 d'une pancréatine dans une solution chlorhydrique de 0,90 °/₀₀ en Hcl gazeux suffit pour détruire les ferments amylolytique et lipasique.

Ce dernier ferment même ne résiste pas à une macération de quelques heures dans l'eau bidistillée à + 36° **5.**

B) La présence de pepsine et d'albuminoïdes plus ou moins dégradés (milieu stomacal reconstitué « in vitro » au moyen de pepsine et de fibrine) n'atténue pas, au contraire, l'influence de l'acidité chlorhydrique.

La fixation des ions H par les albuminoïdes qui se produit « in vitro » et tend à amener le milieu à la neutralité ne doit pas avoir lieu « in vivo », les cellules à Hcl fabriquant de nouvel acide au fur et à mesure de sa combinaison avec la molécule albuminoïde afin de maintenir le contenu stomacal à un degré d'acidité constant.

BIBLIOGRAPHIE

Astruc : Traité de pharmacie galénique (intérim).

Astruc, Canals, Renaud : Observations sur l'amylase (Congrès A.F.A.S. Montpellier, 1922).

Balbiano : Gaz chim. Ital. : 33-1-312-1903 (p. 55).

Bertrand G. et Thomas : Guide pour les manipulations de chimie biologique. (Dunod édit.) (p. 8, 17, 18, 35).

Berthelot : Ann. chim. Phys. : 3-41-216-1854 (p. 14, 57).

Bourquelot : cité par Lambling, Précis de Biochimie p. 174 (p. 14).

Brown et Héron : cité par Lambling, P. de Bioch. p. 174 (p. 30).

Byla et Pénau : Les Produits biol. médicinaux (p. 70).

Canals E. : Sur l'intervertion du Saccharose dans la liqueur cuproalcaline. Bull. Soc. chim. 4e série T XXXL p. 583-1922 (p. 18).

Chaudun : Thèse sciences, Paris 1921 (p. 30).

Choay : Des extraits opothérapiques p. 98-99-29 et inter. (p. 41, 57, 72).

Claude Bernard : C. R. 28-249-1849.

Connstein-Hoyer et Wartenberg : Ber. 35-3988-1902 (p. 53).

Dastre : C. R. Soc. Biol. XLV, 648, 1893 (p. 64).

Delezenne : C. R. Biol. LIV, 691-1902 (p. 37).

Dorvault : Officine de pharmacie pratique 1893 p. 667 (p. 64).

Effront : Les catalyseurs Biochimiques : p. 326-337-314-177-181 (p. 70-79).

Fernbach : Anm. Brasserie. Dist. 1911, 25 février p. 73 (p. 13, 15, 16).

Fernbach et Wolff : C. R. Acad. Sc. 144-1907 p. 645 (p. 26).

Glaessner : cité par Lambling. Prèc. Bioch. p. 174 (p. 10, 7).

Gley : Traité de physiol. p. 642 (p. 10).

Grimbert : Journal Ph. et Chim. 7e série 1913 (p. 107 (p. 29, 32).
Journal Ph. et Chim. 7e série 1916 p. 13 (p. 29, 32).

Green : Proc. Roy. Soc. 48-370-1890 (p. 53).

Hanriot et Camus : Ac. Sc. t. CXXIV p. 235-1897 (p. 57).

Ibrahim et Kannheimer : Zeit. Phys. Chim. t. 62 p. 287-295-9-1909 (p. 7).

Javilliers : Des ferments protéolytiques : Thèse agrég. Paris 1909 (p. 9, 64).

Kuhne : Verhandl des naturhist und Ver. Heidelberg 1876 t. 1 p. 194 (p. 64)

Lambling : Précis de Bioch. (interim).

NOTA. — Les chiffres portés entre parenthèses correspondent aux pages de la thèse où l'auteur est cité.

Lavalle Francis : Chem. News t. XCI p. 299-1905 (p. 16).
Lépine : cité par P. Byla et Pénau (p. 10).
Lewkowitsch : Ber .33189-1900-36-175-1903 (p. 54).
Lisbonne : Sur deux conditions de milieu nécessaires à la saccharification de l'amidon par les amylases salivaire et pancréatique 1911 p. 37 (p. 15, 16).
Loew : Pflüg archiv. XXVII, 203-1882 (p. 9, 64).
Maillot : Thèse ph^ie Nancy 1880 (p. 53).
Malfitano et Moschoff : C. R. Ac. Sc. 151-1910 p. 817 (p. 9, 26).
Maquenne : C. R. t. 161 p. 617 (p. 18).
Maquenne et Roux : cité par Lambling Prés. Bioch. p. 64 (p. 14).
C. R. Ac. Sc .Paris T. CXLII p. 1059 (p. 24).
Morel et Terroine : C. R. Soc. Biol. 1909 p. 272 (p. 55).
Musculus : cité par Duclaux : Microbiol. T. II p. 406 (p. 36).
Müntz : Ann. Chim. Phys. 4-22-472-1871 (p. 53).
Nicloux : Contribut. à l'étude de la Saponificat. des corps gras. Thèse Sc. phys. Paris 1905 (p. 53).
Pelouze : Ann. Chim. Phys. 3-45-319-1855 (p. 53).
Pottevin : Ann. Brass. Dist. V. 1889 p. 243 (p. 14).
Renaud : Étude pharmacol. de la Pepsine. Thèse Montpellier 1921 (p. 42, 51).
Saillard : C. R. t. 161, p. 519 (p. 18).
Siegmund : Monatsch. f. Chim. 11-272-1890 (p. 53).
Stoklasa : Zeit. phys. Chim. t. 62 p. 287-295-9-1909 (p. 7).
Tarbouriech : *cours* (interim) (p. 71).
Valentin : cité par Javilliers. Des ferments protéolytiques p. 94 (p. 6).
Vaudin-Donnard et Labbé : Assoc. doct. ph^ie IV 197-1905 (p. 93).

Vu et bon à imprimer.
Montpellier, le 20 novembre 1922.
Le Président de Thèse,
A. ASTRUC.

Vu et approuvé.
Montpellier, le 22 novembre 1922.
Le Doyen de la Faculté,
G. MASSOL.

Vu et permis d'imprimer.
Montpellier, le 24 novembre 1922
Le Recteur, Jules COULET.

IMPRIMERIE DES MUTILÉS. — TOURS.